

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VÍTOR RENAN DA SILVA

**OBTENÇÃO E ANÁLISE DA SERICINA DE ALTA MASSA MOLAR MEDIANTE  
EXTRAÇÃO AQUOSA E ULTRAFILTRAÇÃO E A AVALIAÇÃO DO SEU  
POTENCIAL BIOSSORTIVO**

CURITIBA

2013

VÍTOR RENAN DA SILVA

**OBTENÇÃO E ANÁLISE DA SERICINA DE ALTA MASSA MOLAR MEDIANTE  
EXTRAÇÃO AQUOSA E ULTRAFILTRAÇÃO E A AVALIAÇÃO DO SEU  
POTENCIAL BIOSSORTIVO**

Tese de doutorado apresentada como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Agnes de Paula Scheer.

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelino Luis Gimenes

CURITIBA

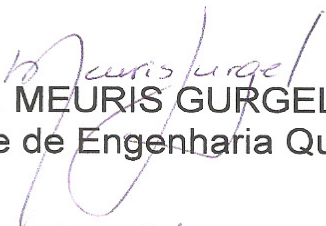
2013


**VITOR RENAN DA SILVA**

**OBTENÇÃO E ANÁLISE DE SERICINA DE ALTA MASSA MOLAR MEDIANTE EXTRAÇÃO AQUOSA E ULTRAFILTRAÇÃO E A AVALIAÇÃO DO SEU PONTENCIAL BIOSSORTIVO**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. AGNES DE PAULA SCHEER  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MEURIS GURGEL CARLOS DA SILVA  
Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA CAROLINA SÉRGIO GOMES  
Campus Apucarana, UTFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. LUCIANA IGARASHI MAFRA  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 06 de dezembro de 2013.

---

S586o

Silva, Vítor Renan da

Obtenção e análise da sericina de alta massa molar mediante extração aquosa e ultrafiltração e a avaliação do seu potencial bioassortivo / Vítor Renan da Silva. — Curitiba, 2013.  
180f. : il. color. ; 30 cm.

Tese(doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2013.

Orientadora: Agnes de Paula Scheer -- Co-orientador: Marcelino Luís Gimenes.

Bibliografia: p. 169-180.

1. Bicho-da-seda - Resíduos. 2. Proteínas. 3. Bioquímica I. Universidade Federal do Paraná. II. Scheer, Agnes de Paula. III. Gimenes, Marcelino Luís. IV. Título.

CDD: 677.394

---

## **EM MEMÓRIA**

Às minhas irmãs que agraciaram as nossas vidas durante o tempo que estiveram conosco e que nem o mesmo o tempo apagará vocês de nossas lembranças e de nossas vidas

LANA e o seu bom humor e simpatia que contagiavam a todos.  
LÍVIA e o seu zelo, determinação e firmeza que sempre traziam conforto e afeto.

Imagens e lembranças que manteremos sempre conosco, tanto dos inúmeros momentos de alegria quanto dos momentos de dificuldade e luta pela vida, que ficaram marcados em nossas vidas e nos fazem mais fortes.

Que junto a Deus continuem sendo os nossos anjos, como sempre foram em vida, protegendo e iluminando a nossa caminhada.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida e graça de cada dia, pela sua presença que nos acolhe, apóia e conforta em todos os momentos de alegria, desafios, perdas, angústias e conquistas. E por acolher as minhas irmãs.

Aos meus pais Susan e Valdir, que dedicaram as suas vidas pelos seus filhos, enfrentando todas as adversidades, os percalços da vida com caráter, integridade e muita dignidade. O maior legado que poderiam ter deixado para mim foi ser filho de vocês. MUITO OBRIGADO SEMPRE.

A minha orientadora, professora Agnes, por todos estes anos de convívio, pela amizade, confiança, apoio, paciência e tolerância; de forma a acreditar no meu trabalho e valorizar o esforço de todo trabalho feito durante este meu ciclo de formação.

Ao professor Marcelino pela coorientação e oportunidade de trabalho com tema em questão; e toda sua participação e a atenção a mim concedida quando estive em Maringá.

À Universidade Federal do Paraná, por todos estes quinze anos de convívio, nos quais tive momentos de alegria e de dor, que ficaram sempre registrados em minha vida.

Ao PPGEAL pelo espaço e pela oportunidade a mim concedida para o meu desenvolvimento e formação. Ao Paulo Krainski por toda a assistência concedida referente aos procedimentos administrativos da pós-graduação.

Às professoras Meuris, Maria Carolina, Luciana e Rosemary por disponibilizarem seu tempo e atenderem prontamente ao convite para participar da defesa deste trabalho; e ao professor Juarez pela participação durante a qualificação.

À empresa Fiação BRATAC S. A. pelo contato, a receptividade e ao fornecimento de amostras de casulo e de fio de seda beneficiado.

Ao Laboratório de Análises Minerais e de Rocha (LAMIR), Centro de Microscopia Eletrônica e o Laboratório de Espectrofotometria no Infravermelho do Departamento de Química da UFPR, pelas análises de difração de raio-x, MEV e FTIR, respectivamente, e ao Departamento de Engenharia Química da UEM pelas análises de área superficial.

Ao Marcelo Ribani e ao TECPAR por todo o apoio e predisposição para colaborar com o trabalho com as análises cromatográficas e perfil de aminoácidos.

Aos responsáveis pelo laboratório LATOS/DEQ UFPR e pela técnica Sheila, por disponibilizar o acesso e uso da estrutura e equipamentos fundamentais para a realização dos experimentos de adsorção em batelada.

Aos colegas da UEM José Tomadon Jr. e Franciele Turbiani pelo auxílio e aprendizado quanto aos processos de extração da sericina.

Aos colegas Luana e Thiago pela contribuição com as análises reológicas e rotina computacional para os modelos de adsorção, respectivamente.

Aos demais colegas discentes de pós-graduação pelo convívio.

A Fabiane, companheira que esteve ao meu lado fazendo o possível por mim e pelo meu trabalho; exemplo de caráter e dedicação ao trabalho e a família. MUITO OBRIGADO por fazer parte da minha vida.

## RESUMO

A sericina é uma proteína hidrofílica constituinte do casulo do bicho-da-seda que, durante o processo de degomagem da seda, é descartada como resíduo industrial. Entretanto, possui em sua composição grande parcela de aminoácidos polares que podem ser utilizados no desenvolvimento de biomateriais e produtos de alto valor agregado. Este trabalho apresenta o estudo da obtenção da sericina de alta massa molar por meio de extração aquosa e fracionamento por ultrafiltração; e a avaliação do potencial da sericina como bioissorvente aplicado ao tratamento do corante sintético Bordeaux S e de cobre. Os processos de extração foram conduzidos variando a temperatura (80 °C e 120 °C), concentração de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0 e 0,5 %). Foram avaliados o perfil de aminoácido e o comportamento reológico das soluções obtidas durante a extração em meio aquoso. Soluções contendo sericina obtida pela extração aquosa a 120 °C foram processadas em ultrafiltração com membranas de polissulfona de retenção nominal de 50 kDa em reciclo total, batelada, diafiltração e batelada associada a retrolavagem. As variáveis do processo que influenciam no fluxo de permeado foram avaliadas por meio de operação em reciclo total. Do processo em batelada, foram estimados os mecanismos resistivos e mensuradas as perdas de massa por acúmulo na membrana. Sericina em pó, obtida mediante extração aquosa e desnaturação a frio foi utilizada como bioissorvente para remoção de corante sintético Bordeaux S e do íon metálico de cobre. A bioissorção do corante sintético foi conduzida em batelada, avaliando o pH, as cinéticas e processos de equilíbrio nas temperaturas de 20, 30 e 40 °C. A bioissorção de íons cobre foi conduzida em batelada, avaliando o pH, as cinéticas e processo de equilíbrio nas temperaturas de 20, 40 e 60 °C. A extração da sericina por meio aquoso possibilitou um rendimento de extração de  $23,99 \pm 0,96$  % a 120 °C e o perfil de massa molar obtida apresentou distribuição com predominância na faixa de 100 a 200 kDa; enquanto a extração com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  proporcionou rendimento de extração de  $30,04 \pm 0,83$  % com distribuição de massa molar inferior a 100 kDa. A reologia das soluções aquosas de sericina sugere comportamento pseudoplástico com aumento da viscosidade ao longo do tempo até agregação da sericina na forma de gel forte. O perfil de aminoácidos apresentou composição majoritária de aminoácidos polares, contendo serina (21,56 %), ácido aspártico (14,0 %), arginina (11,95 %), e glicina (23,2 %). O processo de ultrafiltração promoveu a remoção de sericina de baixa massa molar na corrente de permeado, entretanto, observou-se queda de fluxo da ordem de 90 %. O processo de batelada associada à retrolavagem permitiu a recuperação parcial de fluxo, entre 20 % a 24 % por ciclo. O mecanismo de bloqueio de poros predominante no processo de batelada foi o de bloqueio parcial de poros. As perdas de massa de sericina devido à retenção na membrana foram da ordem de 78,8 % e 81,4 % do montante presente na batelada; nas concentrações iniciais de sericina de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. A sericina desnaturada mediante processo de congelamento e descongelamento apresentou morfologia não porosa e área superficial média de  $18,52 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ . O processo de bioissorção de corante Bordeaux S ocorre em pH inferior a 3,5. A capacidade de bioissorção obtida para sericina variou entre  $192,03 \pm 2,46$  a  $214,06 \pm 2,46 \text{ mg g}^{-1}$ , para as temperaturas entre 20 e 40 °C. A partir da análise termodinâmica, constatou-se que o processo de bioissorção do corante Bordeaux S com a sericina é espontâneo, com energia de



Gibbs variando entre  $-14,19$  a  $-13,46$   $\text{kJ mol}^{-1}$ ; exotérmico e de natureza física com a entalpia de  $-0,27$   $\text{kJ mol}^{-1}$ ; e processo sem a mudança conformacional, com entropia estimada em  $46,12$   $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ . O processo de bioadsorção de cobre foi favorável para pH acima do ponto isoelétrico (entre 3,2 e 3,3), com a capacidade de bioadsorção entre  $15,72 \pm 0,42$  a  $21,77 \pm 0,22$   $\text{mg g}^{-1}$ , para temperaturas entre 20 e 60 °C. A partir da análise termodinâmica, constatou-se que o processo de bioadsorção de cobre com a sericina é espontâneo, com energia de Gibbs variando entre  $-6,31$  a  $-3,45$   $\text{kJ mol}^{-1}$ ; exotérmico e de natureza química com entalpia de  $-27,80$   $\text{kJ mol}^{-1}$ ; e processo com aumento do grau de ordenação da superfície ocasionado pela complexação do cobre nos aminoácidos polares, com entropia estimada em  $-70,48$   $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ . O modelo cinético e de equilíbrio com melhores capacidades preditivas para a bioadsorção do corante Bordeaux S e do cobre foram os modelos de pseudo-segunda ordem e a isoterma de Langmuir, respectivamente.

Palavras chaves: sericina, fracionamento protéico, desnaturação protéica, bioadsorção, isotermas de adsorção, modelos cinéticos de bioadsorção.

## ABSTRACT

Sericin is a hydrophilic protein, constituent of the silkworm cocoon that is removed through a degumming treatment of silk and regarded as waste. However, in its composition has large portion of polar amino acids that can be used in the development of biomaterials and products with high value. The objective of this study was to obtain sericin with high molecular weight by aqueous extraction process and ultrafiltration and to evaluate the sericin potential as biosorbent applied to water treatment of synthetic dye Bordeaux S and copper. The extraction process was done varying temperature between 80 and 120 °C, and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> concentration between 0 and 0.5 g L<sup>-1</sup>. The amino acids profile and rheological behavior of aqueous solution of sericin solution were determinate. Aqueous solutions of sericin, obtained at 120 °C, were treated in ultrafiltration system with polysulfone membrane with nominal retention of 50 kDa in the different operation modes: batch, diafiltration and batch with back flushing. The processes variables which influence the permeate flux were evaluated by total recycling mode operation. From the batch mode operation, were evaluated the resistive mechanisms of permeate flux and loss of sericin due the membrane retention. Sericin powder, obtained from aqueous extraction and cold denaturation, was use as biosorbent to remove Bordeaux S synthetic dye and copper from wastewater. To the biosorption of the synthetic dye was studied the effect of pH at 20 °C, kinetics and equilibrium at 20, 30 and 40 °C, while to the biosorption of cooper was studied the effect of pH at 20 °C, kinetics and equilibrium at 20, 40 and 60 °C. Hot water extraction process of sericin showed yield of 23.99 ± 0.96 % at 120 °C and predominant molecular weight distribution between 100 at 200 kDa, while the extraction process with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> showed yield of 30.04 ± 0.83 % a 120 °C and molecular weight distribution lower than 100 kDa. The aqueous sericin solutions showed pseudoplastic behavior, with viscosity increase over time until the formation of a strong gel structure. The amino acids composition showed high concentration of polar amino acids, with serin (21.56 %), aspartic acid (14.0 %), arginine (11.95 %) and glycine (23.2 %). Ultrafiltration process promoted the removal of sericin of low molecular weight by the permeate stream, however, was observed a decrease of permeate flux up to 90%. The batch operation mode with backflushing allowed the partial recovery of the permeate flux, between 24% and 20% per cleaning cycle. The predominant blocking pore mechanism in batch operation mode was the partial pore blocking and the loss of sericin due the membrane retention were estimated in up to 78.8 and 81.4 % of the initial amount of sericin in batch, for the treatment of sericin solutions with concentration of 1.0 and 3.0 g L<sup>-1</sup>, respectively. The sericin powder obtained by freezing and thawing processes showed nonporous morphology and average surface area of 18.52 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. The biosorption of Bordeaux S dye in sericin powder occurs into pH below 3.5. The maximum amount of Bordeaux S adsorbed in sericin ranged from 192.03 ± 2.46 to 214.06 ± 2.46 mg g<sup>-1</sup>, for temperatures ranging between 20 and 40 °C. By thermodynamics analysis, the process of Bordeaux S biosorption in sericin powder was spontaneous, with evaluated range Gibbs energy from -14.19 to -13.46 kJ mol<sup>-1</sup>; exothermal process and physical interactions, with enthalpy of -0.27 kJ mol<sup>-1</sup>; and process without significant conformational change, with entropy estimated at +46.12 kJ mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>. The biosorption of copper ions in sericin was favorable only into pH above the isoionic point (pH between 3.2 and 3.35)

with the amount of copper adsorbed range from  $15.72 \pm 0.42$  to  $21.77 \pm 0.22$  mg g<sup>-1</sup>, at temperatures between 20 and 60 °C. According with thermodynamics analysis, the copper biosorption is a spontaneous process, with Gibbs energy variation between -6.31 to -3.45 kJ mol<sup>-1</sup>; exothermic process and chemical interaction, with enthalpy of -27.8 kJ mol<sup>-1</sup>; and process with significant change in superficial conformation due the complex bond between the polar amino acids and metal, with entropy estimated at -70.48 kJ mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>. The best fit model to kinetic and equilibrium data for Bordeaux S and copper adsorptions was the pseudo-second-order and Langmuir isotherm, respectively.

Keywords: sericin, protein fractionation, protein denaturation, biosorption, adsorption isotherms, kinetic models of biosorption.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - AMINOÁCIDOS CONSTITUINTES DA SERICINA E DA FIBROÍNA .	33
TABELA 2.2 - APLICAÇÕES E FORÇAS MOTRIZES DOS DISTINTOS PSM. ....	38
TABELA 3.1 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO .....	68
TABELA 3.2 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DA VELOCIDADE TANGENCIAL .....	74
TABELA 3.3 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DA ÁREA SUPERFICIAL.....	74
TABELA 3.4 - MODELOS ALGÉBRICOS PARA OS MECANISMOS E BLOQUEIO DE POROS. ....	81
TABELA 4.1 - CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE CASULO E FIO DE SEDA. .....	94
TABELA 4.2 - EXTRAÇÃO DA SERICINA PARA AS AMOSTRA DE CASULO E FIO BENEFICIADO A DISTINTOS PROCESSOS DE DEGOMAGEM.....	95
TABELA 4.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PROCESSO DE DEGOMAGEM EM MEIO AQUOSO (CASULO).....	95
TABELA 4.4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PROCESSO DE DEGOMAGEM PARA DISTINTAS TEMPERATURAS E CONCENTRAÇÕES DE CASULO. ....	97
TABELA 4.5 - TAXA DE DEGOMAGEM DURANTE O PERÍODO DE AQUECIMENTO DA AUTOCLAVE ATÉ A TEMPERATURA DE EXTRAÇÃO <sup>1</sup> .....	99
TABELA 4.6 - AJUSTE DO MODELO DE HERSHCHEL-BULKLEY PARA AS SOLUÇÕES AQUOSAS DE SERICINA.....	102
TABELA 4.7 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA PARA AS DISTINTAS SOLUÇÕES DE SERICINA OBTIDAS NAS EXTRAÇÕES A 120 °C EM MEIO AQUOSO. ....	104
TABELA 4.8 - AMINOÁCIDOS CONSTITUINTES DA SERICINA E REFERÊNCIAS... .....	108
TABELA 4.9 - EFEITO DA VELOCIDADE NO PERFIL DE ESCOAMENTO. ....	111
TABELA 4.10 - EFEITO DA ÁREA SUPERFICIAL E CONCENTRAÇÃO NA PERMEABILIDADE DA MEMBRANA. ....	112

TABELA 4.11 - ANÁLISE DO DECAIMENTO DO FLUXO DE PERMEADO PARA OS DISTINTOS MODOS DE OPERAÇÃO. ....	117
TABELA 4.12 - MASSA ACUMULADA POR CICLOS DE 15 MINUTOS NOS MODOS DE OPERAÇÃO AVALIADOS. ....	118
TABELA 4.13 - ANÁLISE DO DECAIMENTO DO FLUXO. ....	121
TABELA 4.14 - ANÁLISE DO FLUXO DE PERMEADO: MODELO DO BLOQUEIO DE POROS – 1,0 g L <sup>-1</sup> .....	124
TABELA 4.15 - ANÁLISE DO FLUXO DE PERMEADO: MODELO DO BLOQUEIO DE POROS – 3,0 g L <sup>-1</sup> .....	124
TABELA 4.16 - VALORES ESTIMADOS PARA O VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO E MASSA DE SERICINA ACUMULADA NA MEMBRANA AO FIM DO PROCESSO. ....	129
TABELA 4.17 - CARACTERÍSTICAS TEXTURAIS DA SERICINA EM PÓ E DA FIBROÍNA OBTIDAS MEDIANTE EXTRAÇÃO AQUOSA A 120 °C..... .....	136
TABELA 4.18 - PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE FREUNDLICH, LAGMUIR E TEMKIN; E PARÂMETROS DE AJUSTE ESTATÍSTICOS.....	142
TABELA 4.19 - PARÂMETROS TERMODINÂMICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S EM SERICINA.....	143
TABELA 4.20 - EFEITO DA TEMPERATURA NA CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S PARA A SERICINA E FIBROÍNA. ....	145
TABELA 4.21 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S POR SERICINA.....	147
TABELA 4.22 - PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE FREUNDLICH, LAGMUIR E TEMKIN; E PARÂMETROS DE AJUSTE ESTATÍSTICOS.....	155
TABELA 4.23 - PARÂMETROS TERMODINÂMICOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA. ....	158
TABELA 4.24 - BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA A DIFERENTES VALORES DE pH A 20 °C E CONCENTRAÇÃO DE 50 mg L <sup>-1</sup> . ....	160
TABELA 4.25 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE POR SERICINA.....	161

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - CICLO DE VIDA DO <i>BOMBYX MORI</i> .....	28
FIGURA 2.2 - METAMORFOSE DO <i>BOMBYX MORI</i> .....	28
FIGURA 2.3 - ESTRUTURA FOLHA $\beta$ -PARALELA DA FIBROÍNA .....	32
FIGURA 2.4 - ESBOÇO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS .....	37
FIGURA 2.5 - QUEDA DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO DE OPERAÇÃO.....	40
FIGURA 2.6 - MECANISMOS DE <i>FOULING</i> . ....	46
FIGURA 2.7 - ESTRUTURA QUÍMICA DO CORANTE BORDEAUX S. ....	53
FIGURA 3.1 – AMOSTRAS DE CASULO INTEIRO (a), PICADO (b) E FIO DE SEDA BENEFICIADA (c) .....	66
FIGURA 3.2 - UNIDADE DE ULTRAFILTRAÇÃO.....	72
FIGURA 3.3 - OPERAÇÃO EM SISTEMA FECHADO.....	74
FIGURA 3.4 - MODOS DE OPERAÇÃO AVALIADOS NA ULTRAFILTRAÇÃO.....	77
FIGURA 3.4 - VOLUMES DE CONTROLE PARA O BALANÇO DE MASSA. ....	82
FIGURA 3.5 - PROCEDIMENTO DE OBTENÇÃO DA SERICINA EM PÓ PARA ADSORÇÃO.....	86
FIGURA 4.1 - TAXA DE DEGOMAGEM PARA EXTRAÇÃO EM AUTOCLAVE.....	96
FIGURA 4.2 - DISTRIBUIÇÃO DE MASSA MOLAR DAS EXTRAÇÕES A DISTINTAS TEMPERATURAS. ....	98
FIGURA 4.3 - EFEITO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO .....	99
FIGURA 4.4 - COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES DE SERICINA .. .....	101
FIGURA 4.5 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA DAS SOLUÇÕES CONTENDO SERICINA. ....	104
FIGURA 4.6 - VARREDURA DE TENSÃO (a) E DE FREQUÊNCIA (b). ....	105
FIGURA 4.7 - VARREDURA DE TEMPERATURA. ....	106
FIGURA 4.8 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NO FLUXO DE PERMEADO A DISTINTAS PRESSÕES TRANSMEMBRANAS.....	109

FIGURA 4.9 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE SERICINA E VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO NO FLUXO DE PERMEADO, ÁREA SUPERFICIAL DE 320 cm <sup>2</sup> .	110
FIGURA 4.10 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE SERICINA E DA ÁREA SUPERFICIAL NO FLUXO DE PERMEADO, VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO DE 1,0 L min <sup>-1</sup> .	111
FIGURA 4.11 - EFEITO DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO NO PERFIL DE MASSA MOLAR	114
FIGURA 4.12 - DISTRIBUIÇÃO DA MASSA MOLAR OBTIDOS PARA OS MODOS DE	116
FIGURA 4.13 - FLUXO DE PERMEADO NORMALIZADO AO LONGO DO TEMPO...	118
FIGURA 4.14 - FLUXO DE PERMEADO APÓS A ESTABILIZAÇÃO DA CAMADA DE POLARIZAÇÃO.	118
FIGURA 4.15 - PERFIL DE FLUXO DE PERMEADO E DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO.	120
FIGURA 4.16 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA E DO COEFICIENTE DE REJEIÇÃO	121
FIGURA 4.17 - AJUSTE DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS. a) 1,0 g L <sup>-1</sup> b) 3,0 g L <sup>-1</sup>	125
FIGURA 4.18 - CORRELAÇÃO EMPÍRICA ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE SERICINA NO RETENTADO E A VAZÃO DE PERMEADO.	126
FIGURA 4.19 - VARIAÇÃO DA MASSA DE SERICINA AO LONGO DO TEMPO.	127
FIGURA 4.20 - VARIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SERICINA NAS CORRENTES DE RETENTADO E ALIMENTAÇÃO.	128
FIGURA 4.21 - ESTIMATIVA DO VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO.	130
FIGURA 4.22 - ESTIMATIVA DA MASSA DE SERICINA ACUMULADA NA MEMBRANA	131
FIGURA 4.23 - FRACIONAMENTO DAS SOLUÇÕES MEDIANTE DESCONGELAMENTO	133
FIGURA 4.24 - DISTRIBUIÇÃO DE MASSA MOLAR PARA AS AMOSTRAS FRACIONADAS POR DESCONGELAMENTO.	133
FIGURA 4.25 - ANÁLISE DE FTIR DA AMOSTRA DE SERICINA EM PÓ.	134
FIGURA 4.26 - DERIVADA SEGUNDA DO ESPECTRO DE FTIR DA SERICINA EM PÓ OBTIDA PELO DESCONGELAMENTO E LIOFILIZADA.	135
FIGURA 4.27 - DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA SERICINA CONGELADA E LIOFILIZADA.	136

FIGURA 4.28 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA..	136
FIGURA 4.29 - EFEITO DO pH NA CAPACIDADE DE BIOSSORÇÃO DA SERICINA EM RELAÇÃO AO CORANTE BORDEUAX S.....	138
FIGURA 4.30 - POTENCIAL ISOIÔNICO DA SERICINA.....	139
FIGURA 4.31 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S.....	140
FIGURA 4.31 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S.....	141
FIGURA 4.32 - CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S COM SERICINA. ....	145
FIGURA 4.33 - MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO BORDEAUX S. .....	148
FIGURA 4.33 - MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO BORDEAUX S. .....	149
FIGURA 4.34 - BIOSSORÇÃO DO BORDEUAX S POR MEIO DO MODELO DIFUSIVO LIMITADO PELA TRANSFERÊNCIA DE MASSA EXTERNA. ....	150
FIGURA 4.35 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CORANTE AO LONGO DO TEMPO .....	151
FIGURA 4.35 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CORANTE AO LONGO DO TEMPO .....	152
FIGURA 4.36 - DIAGRAMA DE ESPECIAÇÃO DO COBRE EM FUNÇÃO DO pH. .... .....	153
FIGURA 4.37 - EFEITO DO pH NA BIOSSORÇÃO DE COBRE POR SERICINA..	153
FIGURA 4.38 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO COBRE COM SERICINA.....	156
FIGURA 4.38 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO COBRE COM SERICINA.....	157
FIGURA 4.39 - CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA. ....	160
FIGURA 4.40 - MODELOS CINÉTICOS AVALIADOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE. ....	162
FIGURA 4.40 - MODELOS CINÉTICOS AVALIADOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE. ....	163
FIGURA 4.41 - BIOSSORÇÃO DE COBRE POR MEIO DO MODELO DIFUSIVO LIMITADO PELA TRANSFERÊNCIA DE MASSA EXTERNA.....	163
FIGURA 4.42 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE AO LONGO DO TEMPO .....	164



## LISTA DE SIMBOLOS GREGOS

$\rho_p$	– densidade do permeado ( $\text{kg m}^{-3}$ )
$\varepsilon$	– porosidade superficial da membrana
$\tau$	– tortuosidade do poro, modelo de Hagen-Poiseuille
$\tau$	– tensão de cisalhamento, modelo de Herschel-Bulkley (Pa)
$\tau_o$	– tensão de cisalhamento inicial, modelo de Herschel-Bulkley (Pa)
$\mu$	– viscosidade intrínseca, modelo de Herschel-Bulkley (Pa s)
$\mu_w$	– viscosidade da água (Pa s)
$\mu$	– viscosidade da solução de permeado (Pa s)
$\gamma$	– taxa de cisalhamento, modelo de Herschel-Bulkley ( $\text{s}^{-1}$ )

## LISTA DE SIMBOLOS

$[HCl]$	– concentração de HCl utilizada no ensaio de potencial isoônico (M)
$[NaOH]$	– concentração de NaOH utilizada no ensaio de potencial isoônico (M)
$\Delta G_{ADS}$	– variação da energia de Gibbs de adsorção ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )
$\Delta H_{ADS}$	– variação da entalpia de adsorção ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )
$\Delta m_P$	– massa de permeado coletada em determinado intervalo de tempo (g)
$\Delta P$	– pressão transmembrana aplicada, modelos de fluxo de permeado (MPa)
$\Delta S_{ADS}$	– variação da entropia de adsorção ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )
$B$	– constante relacionada ao calor de adsorção, modelo de Temkin ( $\text{J} \times \text{g}$ )
$C$	– concentração do soluto na solução, no processo de adsorção ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_o$	– concentração inicial do soluto presente em solução, adsorção ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_{EQ}$	– concentração do soluto presente em solução no equilíbrio, processo de adsorção ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_B$	– concentração de sericina na solução alimentada, processo de ultrafiltração ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_F$	– concentração de sericina na corrente de alimentação, processo de ultrafiltração ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_I$	– concentração do soluto na solução adjacente ao adsorvente, na interface sólido-líquido ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_i^{EXP}$	– concentração do soluto presente na solução obtida experimentalmente, ajuste de modelo matemático do processo de adsorção ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_i^{CALC}$	– concentração do soluto presente na solução estimada pelo modelo, ajuste de modelo matemático do processo de adsorção ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_P$	– concentração de sericina na corrente de permeado ( $\text{g L}^{-1}$ )
$C_R$	– concentração de sericina na corrente de retentado ( $\text{g L}^{-1}$ )
$CR$	– coeficiente de rejeição, processo de ultrafiltração
$D$	– coeficiente de difusão intrapartícula do modelo de Crank ( $\text{m}^2 \text{min}^{-1}$ )
$dm_P/dt$	– variação diferencial da massa de permeado no intervalo de tempo estimado
$dP/dz$	– variação da pressão $P$ na espessura da membrana $z$
$EM$	– erro médio absoluto
$FC$	– fator de concentração, processos de ultrafiltração
$F_{OBJ}$	– função objetivo de ajuste do modelo de adsorção
$G'$	– módulo de armazenamento ou elástico, reologia oscilatória (Pa)
$G''$	– módulo de perda ou viscoso, reologia oscilatória (Pa)
$J$	– fluxo de permeado, modelos de Hagen-Poiseuille e Koseny-Carman

$J'_W$	– fluxo de permeado de água com a membrana obstruída ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$J^*$	– fluxo de permeado crítico ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$J_o$	– fluxo de permeado inicial ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$J_{LIM}$	– fluxo de permeado limite obtido quando o processo atinge a condição de fluxo pseudo-estacionário ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$J_P$	– fluxo de permeado, modelos de fluxo de permeado ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$J_W$	– fluxo de permeado de água com a membrana limpa ( $\text{kg m}^2 \text{h}^{-1}$ )
$K_1$	– constante cinética do modelo de pseudo-primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ )
$K_2$	– constante cinética do modelo de pseudo-segunda ordem ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ )
$K_C$	– coeficiente de difusão intrapartícula do modelo de Crank ( $\text{min}^{-1}$ )
$K_F$	– constante do modelo de Freundlich ( $\text{mg}^{1-n} \text{g}^{-1} \text{L}^n$ )
$K_{EQ}$	– constante de equilíbrio termodinâmico do processo de adsorção
$K_{KC}$	– constante de Kozeny-Carman
$K_L$	– constante do modelo de Langmuir ( $\text{L mg}^{-1}$ )
$K_n$	– coeficiente experimental de bloqueio de poro
$K_T$	– constante de equilíbrio, modelo de Temkin ( $\text{L mg}^{-1}$ )
$K_{TM}$	– coeficiente de transferência de massa da fase líquida ( $\text{min}^{-1}$ )
$K_{WM}$	– coeficiente de difusão intrapartícula do modelo de Weber e Morris
$M$	– massa de adsorvente utilizada na batelada, processo de adsorção (g)
$m_f$	– massa de amostra após a extração (g)
$m_i$	– massa de amostra antes da extração (g)
$m_I$	– massa de solução alimentada, processo de ultrafiltração (g)
$m_P$	– massa de solução acumulada na corrente de permeado durante um determinado período de tempo (g)
$MS_{AC}$	– massa de sericina acumulada na superfície da membrana (g)
$MS_P$	– montante de sericina removido no processo devido à corrente de permeado (g)
$MS_R$	– massa de sericina retido na solução que não permeou a membrana (g)
$m_{SERICINA}$	– massa de sericina presente na solução aquosa utilizada no ensaio de potencial isoônico (g)
$N$	– coeficiente experimental que determina o mecanismo de bloqueio dos poros
$N$	– constante do modelo de Freundlich
$N$	– índice de comportamento viscoso, modelo de Herschel-Bulkley
$NE$	– numero de experimentos independentes realizados, processo de adsorção
$P_H$	– permeabilidade hidráulica da membrana

$q$	– quantidade de soluto adsorvido por massa de adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_{eq}$	– massa de soluto adsorvido por adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_i^{CALC}$	– massa de soluto adsorvida mensurada mediante modelos matemáticos ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_i^{EXP}$	– massa de soluto adsorvida mensurada experimentalmente ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_{MAX}$	– capacidade limite de adsorção do adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$Q_F$	– vazão volumétrica da solução da corrente de alimentação ( $\text{L min}^{-1}$ )
$Q_P$	– vazão volumétrica da solução da corrente de permeado ( $\text{L min}^{-1}$ )
$Q_R$	– vazão volumétrica da solução da corrente de retentado ( $\text{L min}^{-1}$ )
$R$	– raio médio dos poros, modelo de Hagen-Poiseuille
$R$	– raio médio das partículas, modelo de Crank
$R$	– constante dos gases ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )
$R_F$	– resistência devido ao <i>fouling</i> , modelo das resistências em série ( $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$ )
$R_M$	– resistência específica da membrana, modelo das resistências em série ( $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$ )
$R_P$	– resistência devido à camada de polarização, modelo das resistências em série ( $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$ )
$R_T$	– resistência total ao processo de ultrafiltração, modelo das resistências em série ( $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$ )
$S$	– desvio padrão amostral
$S$	– área superficial da membrana ( $\text{m}^2$ )
$SE$	– porcentagem de sericina extraída mediante processo de degomagem
$SQR$	– soma dos quadrados dos resíduos
$T$	– temperatura do processo de adsorção ( $^{\circ}\text{C}$ )
$Tr$	– coeficiente de transmissão ou transmitância, processo de ultrafiltração
$V$	– volume de solução do processo de adsorção batelada (L)
$V$	– volume de permeado obtido em um instante de tempo, modelo de bloqueio de poros (L)
$V$	– volume da solução contida no tanque de alimentação, processo de ultrafiltração em batelada (L)
$V_O$	– volume inicial da solução contida no tanque de alimentação, processo de ultrafiltração em batelada (L)
$V_{HCl}^{SER}$	– volume de HCl necessário para ajustar a pH 2,0 as soluções aquosas contendo sericina (mL)
$V_{HCl}^{AGUA}$	– volume de HCl necessário para ajustar o pH da água em pH 2,0 (mL)
$V_{NaOH}^{SER}$	– volume de NaOH necessário para ajustar a pH da solução contendo sericina a um determinado valor (mL)
$V_{NaOH}^{AGUA}$	– volume de NaOH necessário para ajustar a pH da solução contendo sericina a um determinado valor (mL)
$Zp$	– potencial isoônico da sericina ( $\text{mol}[\text{H}^+] \text{ g}^{-1}$ )

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
1.1 OBJETIVOS.....	25
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>27</b>
2.1 SEDA .....	27
2.1.1 Composição e processamento da seda.....	29
2.1.2 Fibroína.....	31
2.1.3 Sericina.....	33
2.2 PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS.....	36
2.2.1 Ultrafiltração.....	39
2.2.2 Fenômenos que limitam o fluxo de permeado .....	40
2.2.3 Camada de Polarização.....	41
2.2.4 <i>Fouling</i> .....	41
2.2.5 Modelos de transporte para processos de ultrafiltração .....	42
2.2.6 Modelos macroscópicos para meios porosos .....	43
2.2.7 Modelo de bloqueio de poros.....	45
2.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS .....	48
2.3.1 Cobre .....	50
2.3.2 Corantes sintéticos .....	52
2.3.3 Biossorção .....	54
2.3.4 Cinética de biossorção.....	55
2.3.5 Isotermas de adsorção .....	60
2.3.6 Termodinâmica da adsorção .....	62
2.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	64
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>65</b>

3.1 MATERIAL .....	65
3.2 METODOLOGIA .....	66
3.2.1 Extração da sericina .....	66
3.2.1.1 Caracterização das amostras de casulo e fio de seda beneficiado .....	67
3.2.1.2 Efeito da temperatura, do tempo de extração e dos tipos de soluções .....	68
3.2.1.3 Perfil de aminoácidos e distribuição de massa molar .....	69
3.2.1.4 Comportamento reológico .....	70
3.2.2 Ultrafiltração.....	72
3.2.2.1 Estudo em sistema fechado .....	73
3.2.2.2 Operação em modo de batelada, diafiltração e batelada associada à retrolavagem .....	75
3.2.2.3 Avaliação do perfil de fluxo de permeado.....	79
3.2.2.4 Estimativa de perda de massa durante o fracionamento.....	81
3.2.3 Precipitação por descongelamento.....	85
3.2.4 Testes de adsorção em batelada.....	85
3.2.4.1 Caracterização dos biossorventes.....	87
3.2.4.2 Efeito do pH nos processos de biossorção do corante Bordeaux S e do cobre .....	89
3.2.4.3 Cinéticas e Isotermas de adsorção do corante Bordeaux S .....	90
3.2.4.4 Cinéticas e Isotermas de adsorção do cobre.....	91
3.2.4.5 Ajuste dos modelos cinéticos e das isotermas de sorção aos dados experimentais .....	92
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>94</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	94
4.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO.....	96
4.3 PERFIL REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES CONTENDO SERICINA .....	100
4.4 PERFIL DE AMINOÁCIDOS .....	107
4.5 ULTRAFILTRAÇÃO TANGENCIAL .....	109

4.5.1	Avaliação dos parâmetros operacionais .....	109
4.5.2	Processos de concentração.....	113
4.5.3	Avaliação do perfil do fluxo de permeado em regime de batelada .....	119
4.5.4	Estimativa da perda de massa durante o processo em batelada .....	126
4.6	BIOSSORÇÃO.....	132
4.6.1	Obtenção da sericina em pó.....	132
4.6.2	Biossorção do corante sintético Bordeaux S .....	137
4.6.2.1	Isotermas de biossorção do corante Bordeaux S.....	139
4.6.2.2	Parâmetros termodinâmicos de biossorção do corante Bordeaux S.....	143
4.6.2.3	Cinética de biossorção do corante Bordeaux S.....	144
4.6.3	Biossorção de cobre .....	152
4.6.2.2	Isotermas de biossorção do cobre .....	155
4.6.2.3	Parâmetros termodinâmicos de biossorção do cobre.....	158
4.6.2.1	Cinética de biossorção do cobre .....	159
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>166</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>169</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A sericicultura consiste na atividade de produção de casulos a partir da criação do bicho-da-seda e da fonte de alimentação, as amoreiras. A produção de casulos objetiva a obtenção de fios de seda para a indústria têxtil. O Brasil é o quinto maior produtor de casulos verdes do mundo, enquanto o Estado do Paraná contribui com 92,34% da produção nacional.

O bicho-da-seda, na fase final de crescimento, tece o casulo ao seu entorno para proteção durante o período de metamorfose da larva para a mariposa. Este casulo é constituído essencialmente de duas frações protéicas: a sericina e a fibroína. A fibroína é a proteína majoritária na composição do casulo, representando em média 70 - 80 % da composição protéica total. Ela apresenta características peculiares como brilho e tato agradável, sendo o produto de maior interesse da indústria têxtil.

A sericina representa de 20 - 30% da composição protéica e é uma proteína complementar à formação do casulo, com a função de envolver os filamentos de fibroína, sendo o agente adesivo dos fios de seda. Ela é uma proteína com caráter hidrofílico, constituída principalmente de serina, ácido aspártico, glicina e treonina. Tradicionalmente, a sericina é descartada como efluente na etapa de degomagem da indústria da seda, devido à sua afinidade com a água e agentes saponificantes, gerando um efluente com alto teor de carga orgânica.

Entretanto, a sericina apresenta composição química e características peculiares, o que lhe confere propriedades tais como a capacidade antioxidante, atividade quelante, resistência a radiação UV, biocompatibilidade e capacidade de absorção e retenção de água. Deste modo, a sericina não deve ser considerada somente como um resíduo a ser tratado no efluente da indústria da seda, mas como um produto da cadeia produtiva com relevante valor agregado.

Portanto, faz-se necessário o investimento em estudos e em tecnologias visando melhorias no processo de extração, recuperação e purificação da sericina; assim como o desenvolvimento de pesquisa de base e aplicada voltadas para o uso da sericina, tanto como insumo para as áreas de cosméticos, de alimentos e da medicina; como matéria prima voltada para o desenvolvimento de biomateriais e processo tecnológicos industriais.



Por se tratar de um subproduto da cadeia produtiva da seda não aproveitado no Brasil, há espaço para a busca e inovação tecnológica para o desenvolvimento e qualificação deste segmento produtivo nacional. Poucos trabalhos avaliam processos de extração de sericina, por meio aquoso, combinados com processo de purificação por meio de processo de separação. Como também o uso da sericina para a obtenção de materiais aplicáveis a processos de separação voltados para tratamento de efluentes.

Portanto, neste contexto, este trabalho apresenta o estudo da obtenção da sericina de alta massa molar mediante processo de extração aquosa e processamento por ultrafiltração, e a avaliação do seu potencial como biossorvente aplicado ao tratamento de corante sintético Bordeaux S e do íon metálico cobre, resíduos comuns presentes em efluentes da indústria de alimentos.

O texto está estruturado em cinco capítulos. Neste primeiro capítulo foi apresentada uma breve introdução e a seguir serão apontados os objetivos delineados no trabalho. O segundo capítulo traz uma revisão referente ao assunto, comentando sobre a sericina, processos de separação por membranas e ultrafiltração, e sobre os processos de adsorção. O terceiro capítulo trata sobre a metodologia adotada e o quarto capítulo apresenta os resultados experimentais e os obtidos pelos diversos modelos matemáticos aplicados, seguidos pelas respectivas discussões. As conclusões gerais do trabalho são apresentadas no quinto capítulo.

## 1.1 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de frações protéicas de sericina com alta massa molar, obtidas do casulo do bicho-da-seda *Bombyx mori*, mediante extração aquosa, fracionamento por ultrafiltração e a avaliação do seu potencial biossorbitivo para tratamento de efluentes comuns da indústria de alimentos.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar a composição básica dos casulos verdes e dos fios de seda beneficiados.

Estudar o processo de extração aquosa da sericina a distintas condições operacionais.

Caracterizar a distribuição de massa molar obtida das extrações.

Determinar o perfil e composição de aminoácidos presentes na sericina obtida por extração aquosa.

Avaliar as propriedades reológicas da sericina obtida mediante extração aquosa.

Caracterizar o efeito dos parâmetros operacionais no processo de ultrafiltração das soluções aquosas contendo sericina.

Avaliar o desempenho do processo de ultrafiltração conduzido em regime de batelada, diafiltração e retrolavagem pulsante para concentração e fracionamento.

Avaliar os mecanismos resistivos presentes no processo de ultrafiltração das soluções aquosas contendo sericina obtida por extração aquosa.

Estimar as perdas de massa de sericina durante o processamento de soluções aquosas em unidade de ultrafiltração.

Obter sericina em pó desnaturada para utilização como biossorbitivo

Avaliar a morfologia da sericina em pó obtida.

Efetuar teste de adsorção com a sericina em pó, em batelada, para a remoção do corante azo Bordeaux S.

Determinar o efeito do pH, o comportamento cinético, as isothermas de biossorção e o comportamento termodinâmico da biossorção do corante azo Bordeaux S e do íon cobre (II) em sericina em pó.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 SEDA

A seda é uma fibra têxtil natural secretada por larvas de uma variedade de insetos do filo *Arthropoda*, sendo o principal o *Bombyx mori*, originário do *Bombyx mandarina* (*Theophila mandarina*), comumente denominado bicho-da-seda. Esta fibra tem por finalidade o recobrimento do inseto e a sua proteção durante a fase de transformação da larva em pupa, e posterior transformação em mariposa (MAUERSBERGER, 1954).

O bicho-da-seda é originário da China e há cerca de 5.000 anos vem sendo criado pelo homem para obtenção de fios de seda. Da China, o inseto foi introduzido no Japão, Turquestão e Grécia. Em 1740, o bicho-da-seda passou a ser criado na Espanha, França, Itália e Áustria. Em 1848 ocorreu a introdução da sericicultura no território brasileiro no Estado do Rio de Janeiro e, em 1922, na cidade de Campinas-SP, onde foi criada a Indústria de Seda Nacional S/A. A partir da década de 30, a sericicultura tornou-se uma importante atividade para a agroindústria brasileira e, atualmente, o Estado do Paraná é o maior produtor nacional de casulos verdes de bicho-da-seda, contemplando 92,34 % da produção nacional, com um montante de 4.099 toneladas de casulo verde na safra de 2009/2010 (SEAB, 2010).

O *Bombyx mori* apresenta um ciclo de vida definido em quatro estágios: ovo; larva; pupa (ou crisálida) e o estágio final na forma de mariposa (denominado imago), ilustrado nas FIGURAS 2.1 e 2.2. O ciclo de vida estimado para esta espécie tem duração entre 55 e 60 dias, dependendo das condições de criação e do tipo do ovo. As larvas alimentam-se das folhas de amoreira, por um período médio de quatro semanas, e apresentam grandes variações físicas: o aumento de massa de 0,45 mg para 4,5 g e de seu comprimento de 3 mm para 8 cm (ZANETTI; REIS, 2003; HOLANDA; MATA; LIMA, 2004). Esta fase de crescimento da larva é descrita em cinco etapas, ou idades. O crescimento é gradual ao longo dos dias e atinge um ápice próximo ao décimo nono dia, período característico onde a glândula responsável pela

formação do casulo inicia o enchimento. Após a fase de alimentação, inicia-se o período de confecção do casulo, período característico de 3 a 6 dias. Nesta fase, a larva secreta os dois componentes protéicos característicos do casulo: a fibroína, proteína de caráter filamentosa e a sericina, agente adesivo dos filamentos de fibroína; conformando o casulo em uma estrutura rígida. O fio secretado pela larva apresenta comprimento médio entre 800 e 1500 metros e diâmetro da ordem de  $2\ \mu\text{m}$  (HOLANDA; MATA; LIMA, 2004).

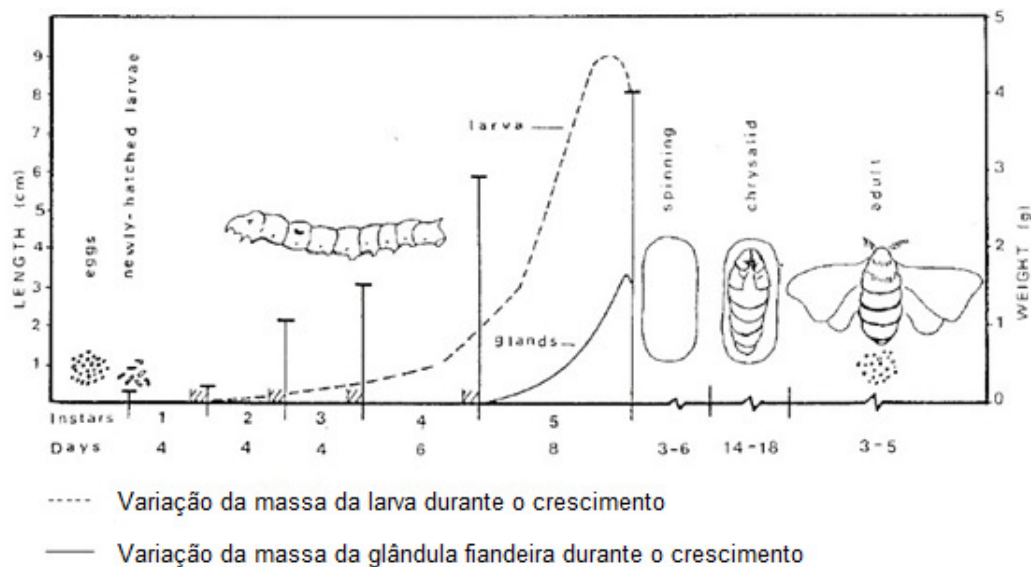


FIGURA 2.1 - CICLO DE VIDA DO *BOMBYX MORI*  
 FONTE: MAUERSBERGER, 1954.

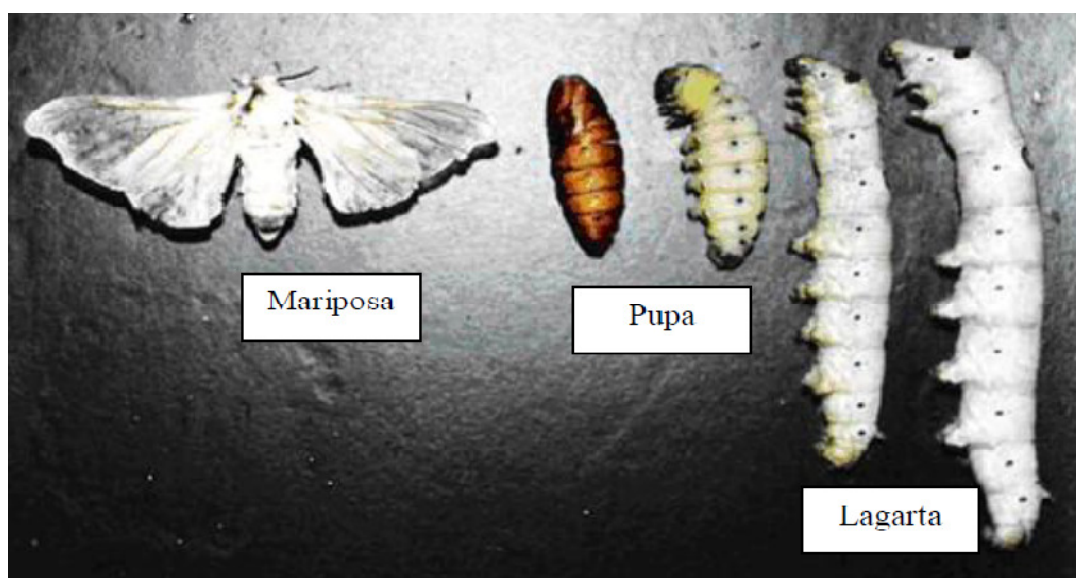


FIGURA 2.2 - METAMORFOSE DO *BOMBYX MORI*  
 FONTE: MARCELINO, 2008.

O processo de metamorfose inicia-se após a conclusão da estrutura do casulo: a larva converte-se na crisálida e após um período médio de 15 a 18 dias, em mariposa. Nesta forma, a mariposa expele um suco alcalino contido em seu estômago para remover a sericina da estrutura do casulo, permitindo a ruptura do casulo e sua saída. A mariposa vive por poucos dias, período no qual compreende a sua fertilidade e a produção dos ovos, reiniciando o ciclo (HOLANDA; MATA; LIMA, 2004).

O cultivo e o manejo deste inseto requerem diversos cuidados, pois o *Bombyx mori* não sobrevive muito tempo exposto ao ambiente. A sua criação é realizada em ambiente confinado chocando os ovos colocados na estação precedente e alimentando as lagartas com as folhas de amoreira. A sericultura é responsável tanto pela criação do bicho-da-seda quanto do cultivo da amoreira para prover a alimentação das larvas (ZANETTI; REIS, 2003).

#### 2.1.1 Composição e processamento da seda

O casulo gerado pelo *Bombyx mori* constitui-se principalmente de proteínas. Observam-se três proteínas distintas: a fibroína, em um montante que corresponde a 70 - 80 % da matéria seca, correspondente ao principal componente do fio de seda têxtil; a sericina, em concentrações entre 20 - 30 % sendo o agente adesivo que mantém enlaçado a fibroína na conformação do casulo; e uma glicoproteína denominada P25, em pequenas concentrações, mas com função na manutenção da integridade do fio de seda. Componentes complementares, como cinzas, polissacarídeos e lipídeos podem ser detectados (PADAMWAR *et al.*, 2005).

O processo industrial têxtil constitui no tratamento do casulo do bicho-da-seda para a obtenção da seda mediante as seguintes operações: secagem; cozimento, degomagem e fiação.

A secagem é a operação inicial na qual o casulo verde é processado com o intuito de interromper o processo de metamorfose da crisálida, exterminando-a e evitando a sua saída do casulo na forma final de mariposa. Outra função é a de estabilizar a estrutura do casulo, padronizando a umidade

para o armazenamento antes do processamento. O processo consiste na secagem com ar quente em co-corrente tendo um longo período de operação (variando de 4 a 8 horas, conforme a capacidade do equipamento e necessidade do processo) (HOLANDA; MATA; LIMA, 2004).

O cozimento é uma operação na qual os casulos são tratados termicamente sob imersão em água quente, em vários estágios a diferentes temperaturas. Neste processo os casulos são cozidos com o intuito de fragilizar a estrutura rígida e permitir a fiação (ZANETTI; REIS, 2003). Conforme CAPAR; AYGUN; GECIR (2008), o efluente da etapa de cozimento do casulo gerado na Turquia é formado a partir de 15 litros de água por quilo de casulo, a uma taxa de  $2,5 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$ , durante três meses do ano, tendo uma carga poluidora elevada: Demanda Química de Oxigênio (DQO) da ordem de  $11600 \text{ mg L}^{-1}$  e uma concentração protéica da ordem de 0,09 % (m/V).

A degomagem é a etapa na qual ocorre a remoção efetiva da sericina. O processo tradicional é realizado com o tratamento dos casulos mediante imersão em solução aquosa contendo diversos aditivos à temperatura de ebulição. A remoção de sericina é realizada para reduzir as imperfeições ocasionadas na superfície da seda e evitar eventuais reações alérgicas do usuário do produto têxtil a base de seda (ALTMANN *et al.*, 2003). Os aditivos mais usuais para a degomagem são bases, sabões (especialmente o sabão de Marselha), e carbonatos (usualmente  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (LAMOOLPHAK; EKNAMKUL; SHOTIPRUK, 2008, MAHMOODI *et al.*, 2010).

Devido à especificidade de processo de degomagem adotada, a carga efluente pode variar muito. VAITHANOMSAT e KITPREECHAVANICH (2008) identificaram valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio ( $\text{DBO}_5$ ) da ordem de  $4840 \text{ mg L}^{-1}$  em efluentes de uma indústria de seda da Tailândia; enquanto que CAPAR, AYGUN e GECIR (2009) avaliaram efluentes com carbono orgânico total de até 52000 e concentração de sericina da ordem de 2,5 % (m/V), proveniente de uma indústria de seda da Turquia.

Como parâmetros de comparação, a Resolução do Conselho Estadual do Meio Ambiente do Paraná CEMA 70/2009, apresenta como limites para lançamento de efluentes da indústria têxtil valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio ( $\text{DBO}_5$ ) de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  e de DQO de  $200 \text{ mg L}^{-1}$ . Desta forma, destaca-

se que a remoção da sericina do efluente industrial é fundamental para atendimento aos padrões de qualidade ambiental.

O processamento da sericina, portanto, é variável de acordo com o grau de remoção de sericina, ou o grau de degomagem desejado. Fios de seda beneficiados, como os produzidos pelo setor industrial fiandeiro do Paraná, adotam apenas o estágio de cozimento com água quente a vapor como etapa de remoção parcial de sericina. Independente do processo, a sericina era usualmente tratada como efluente industrial, acarretando em altos custos para o processo (FREDDI; MOSSOTTI; INNOCENTI, 2003).

Entretanto, diversos são os estudos que demonstram as potencialidades da sericina, em distintos segmentos (alimentos, fármacos, medicina, cosméticos) como forma de incrementar a cadeia produtiva da seda: sendo na melhoria do processo industrial da seda (FREDDI; MOSSOTTI; INNOCENTI, 2003; CAPAR; AYGUN; GECIR, 2009; MAHMOODI *et al.*, 2010) ou no desenvolvimento de novos processos tecnológicos ou produtos derivados da sericina (TAO; LI; XIE, 2005; GIMENES; LIU; FENG, 2007; WU; WANG; XU, 2008).

### 2.1.2 Fibroína

A fibroína é uma glicoproteína fibrosa, insolúvel em água, com massa molar da ordem de 25 a 350 kDa. A estrutura primária da fibroína apresenta mais de 90 % dos aminoácidos na combinação entre glicina (Gly), alanina (Ala) e serina (Ser). A repetição da sequência de aminoácidos na ordem Gly – Ala – Gly – Ala – Gly – Ser é responsável pelo caráter cristalino da fibra, formando um arranjo conhecido como folha- $\beta$  antiparalela (LI *et al.*, 2002; MIYAGUSHI; HU, 2005).

Apresenta, portanto, grande caráter hidrofóbico, sendo altamente insolúvel em água. Possui uma estrutura semicristalina, tendo duas regiões características: região cristalina, características de folha- $\beta$  antiparalela, formada pelas ligações peptídicas de Gly – Ala – Gly – Ala – Ser; e uma região amorfa, com estrutura aleatória formada pela combinação dos demais aminoácidos



constituintes, o que confere uma parcela polar à proteína, conforme FIGURA 2.3 (KUNDU *et al.*, 2008).

A conformação em folha- $\beta$  confere à fibroína as propriedades de tensão mecânica, enquanto a região amorfa é característica da resistência química, retenção de umidade e fixação de pigmentos (MORI; TSUKADA, 2000).

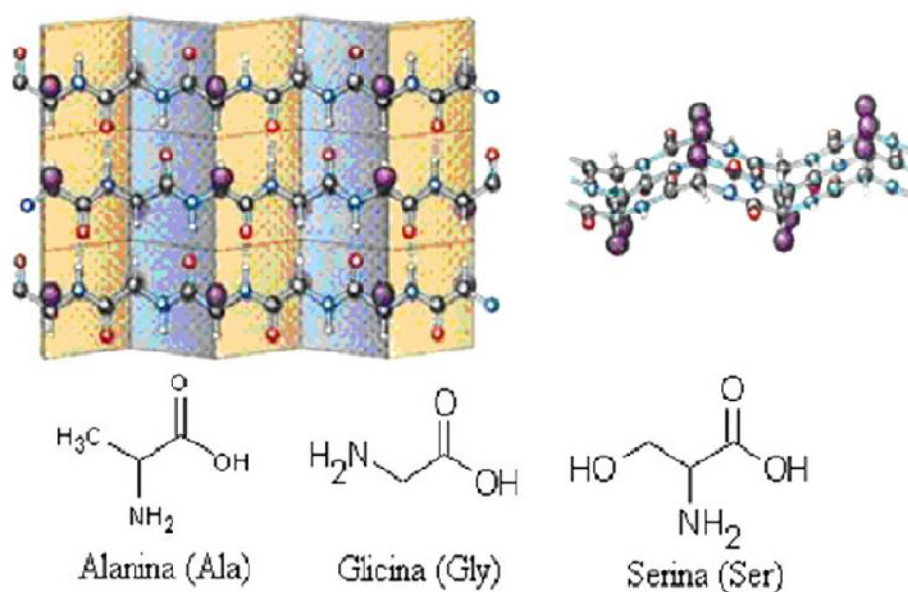


FIGURA 2.3 - ESTRUTURA FOLHA  $\beta$ -PARALELA DA FIBROÍNA  
FONTE: ADAPTADO POR TURBIANI, 2011.

Embora a fibroína represente um material de grande valor para a indústria têxtil, existem diversos estudos evidenciando potencialidades da fibroína em outras áreas. Estudos como os de PARK, JIN e HYUN (2002), LI *et al.* (2002) e WESKA *et al.* (2009), ilustram a possibilidade da utilização da fibroína para a obtenção de biomateriais como suporte para a imobilização de enzimas; para a área da medicina como material para bandagens com alta permeabilidade ao oxigênio; e para a área de fármacos, com a formação de géis para dosagem oral.

ASLANI, ERAL e AKYIL (1998), avaliaram a capacidade de adsorção de íons tório de um meio poroso à base de fibroína. Entretanto, este processo apresentou-se viável apenas em condições ótimas de pH, em função do íon tetravalente de tório formar complexos distintos mais estáveis do que com a fibroína, em determinados pH.

### 2.1.3 Sericina

A sericina é uma proteína globular hidrofílica, que tem por função fisiológica a junção dos filamentos de fibroína, conformando a estrutura compacta do casulo (GENÇ; NARIN; BAYRAKTAR, 2008). A TABELA 2.1 apresenta os aminoácidos constituintes da sericina (ZHANG *et al.*, 2006) e da fibroína (PARK; JIN; HYUN, 2002) derivados da espécie *Bombyx mori*. Observa-se a presença majoritária de serina e ácido aspártico na sericina, o que lhe atribui o caráter hidrofílico, enquanto a composição majoritária da fibroína é de Glicina e Alanina, de caráter hidrofóbico (KUNDU *et al.*, 2008).

TABELA 2.1 - AMINOÁCIDOS CONSTITUINTES DA SERICINA E DA FIBROÍNA

Aminoácidos	Sericina (%mol)	Fibroína (%mol)
Serina (Ser)	25,28	11,86
Ácido aspártico (Asp)	20,57	1,64
Glicina (Gly)	10,51	40,51
Treonina (Thr)	7,96	0,84
Ácido glutâmico (Glu)	7,90	2,01
Arginina (Arg)	5,26	0,88
Lisina (Lys)	4,68	0,14
Tirosina (Tyr)	4,47	1,59
Alanina (Ala)	3,97	32,28
Valina (Val)	3,79	4,20
Histidina (Hys)	1,75	-
Leucina (Leu)	1,36	0,68
Fenilalanina (Phe)	0,96	1,28
Isoleucina (Ile)	0,88	1,05
Cisteína (Cys)	0,72	0,02
Prolina (Pro)	-	0,71
Metionina (Met)	-	0,10
Triptofano (Trp)	-	0,21

A sericina corresponde a 20 – 30 % da composição protéica do casulo da seda e, por ser constituída predominantemente por aminoácidos polares, apresenta solubilidade em água quente. Esta propriedade permite a remoção da sericina no processo de degomagem (ZHANG *et al.*, 2006). A sericina proveniente do casulo da espécie *Bombyx mori* apresenta um perfil de massa molar variável de 20 a 400 kDa. Destacam-se três frações protéicas

características: proteínas com fração molar maior que 250 kDa; fração molar de 180 kDa e menores que 100 kDa (KUNDU *et al.* 2008). Entretanto, diversos trabalhos reportam a variação da massa molar encontrada para a sericina, com ampla distribuição de massa molar. TAKASU, YAMADA e TSUBOUCHI (2002) identificaram três frações características por eletroforese: 400 kDa, 250 kDa e 100 kDa, sendo cada uma produzida por regiões específicas da glândula secretora do fio da seda.

PADAMWAR e PAWAR (2004) identificam as distintas frações de sericina presente no casulo em 03 grupos funcionais distintos quanto à solubilidade em água: sericina A, presente na camada mais externa da fibroína; a Sericina B presente na região intermediária e a Sericina C, grupo contendo maior percentual de estrutura folha- $\beta$  e ligada internamente às cadeias cristalinas da fibroína, conferindo maior estrutura mecânica ao casulo.

A sericina é removida do casulo no processo de degomagem da seda. Tradicionalmente, a sericina é incorporada ao efluente industrial, acarretando em custos de processo e problemas ambientais. No entanto, diversos estudos apontam propriedades especiais da sericina, destacando: capacidade antioxidante, resistência à radiação ultravioleta, capacidade de absorção e retenção de água e biocompatibilidade (ZHANG, 2002; DASH *et al.*, 2008). Por isso, a sericina representa um material nobre, com características peculiares que permitem a sua aplicação na área de alimentos, cosméticos e na medicina (ANGHILERI *et al.* 2007, PADAMWAR; PAWAR, 2004).

KATO *et al.* (1998) demonstraram a ação antioxidante da sericina por meio do estudo da inibição da atividade da tirosinase, enzima do grupo das polifenóis oxidases e responsáveis pelas reações de escurecimento enzimático; tendo ainda a ação quelante dos grupos hidroxilados para fixação de metais catalisadores das oxidações lipídicas, como Cobre e Zinco.

SASAKI, YAMADA e KATO (2000) verificaram o aumento da absorção de íons metálicos (Zn, Ca, Fe e Mg) em ratos com a adição de sericina na dieta dos animais. Os resultados indicaram o incremento de até 41 % de Zn e Fe, 21 % de Mg e 17 % de Ca na taxa de absorção em ratos, pela adição de 3 % de sericina na mesma dieta avaliada nos animais.

WU, WANG e XU (2007) observaram as mesmas atividades antioxidantes em soluções contendo sericina obtidas diretamente de efluente

da etapa de degomagem, em ensaios de inibição da ação da tirosinase e de estabilização do radical livre DPPH.

TAKESHI, MAEKAWA e SUGIMURA (2011), elaboraram emulsões alimentícias a partir da mistura de 10 mL de solução aquosa contendo sericina com concentrações variáveis e distintas massa molares, 50 mL de óleo de soja, 15 mL de vinagre e 5 g de cloreto de sódio, todas desenvolvidas sob agitação constante a 825 rpm por 10 minutos. Os resultados obtidos evidenciaram que as emulsões formadas pelas soluções contendo sericina de alta massa molar mantiveram a emulsão estável por dois dias com viscosidade média de 1810 cP, enquanto as amostras com sericina hidrolisadas formaram emulsões instáveis, com tempos de estabilidade variando de 1 minuto a 30 minutos e viscosidades médias da ordem de 3,0 cP.

Devido à presença de aminoácidos de caráter hidrofílico, como a Serina e o Ácido Aspártico, a molécula de sericina pode ser aplicada para o desenvolvimento de biomateriais aplicáveis ao desenvolvimento de processos de separação seletivos, tais como a adsorção e a separação por membranas (ZHANG, 2002; GIMENES; LIU; FENG, 2007). Filmes poliméricos não porosos contendo sericina podem ser desenvolvidos a partir de ligações cruzadas, contendo agentes fixadores como o glutaraldeído e a dimetiluréia. Nestes casos, estes filmes apresentam maior afinidade com a fração aquosa, favorecendo a difusão da água.

GIMENES, LIU e FENG (2007) desenvolveram blendas de sericina com polivinil álcool (PVA), via ligação cruzada com dimetiluréia, e testaram a sua aplicação em processo de pervaporação de uma solução de água e etanol. A blenda composta de sericina e PVA (contendo 5% de dimetiluréia) obteve concentrações de água na corrente de permeado da ordem de 94 % de água e fatores de separação entre 145 e 172, superior ao desempenho observado com membranas constituídas apenas de sericina ou de PVA.

A grande quantidade de hidroxilas terminais presentes nos aminoácidos constituintes da sericina permite a fixação de radicais e íons catiônicos por mecanismos de complexação, notadamente metais de transição. Esta característica peculiar indica a possibilidade de desenvolvimento de tecnologias voltadas ao tratamento de efluentes contaminados com corantes sintéticos ou íons metálicos, como a adsorção (CHEN et al. 2011, CHEN et al. 2012).

CHEN *et al.* (2011) avaliaram a efetividade do uso de sericina em pó comercial para a recuperação de ouro e cobalto de uma solução aquosa. A sericina apresentou potencial para a recuperação de ouro, com capacidade de retenção de até  $197,0 \text{ mg g}^{-1}$ , superior à encontrada em outros estudos citados, tais como a adsorção em carvão ativado oriundo de casca de arroz ( $90,62 \text{ mg g}^{-1}$ ); resinas de troca iônica à base de grupos  $\text{SH}^-$  ( $133,96 \text{ mg g}^{-1}$ ) e a base de grupos  $\text{NH}_2^-$  ( $39,94 \text{ mg g}^{-1}$ ); filmes à base de uréia - formaldeído ( $17,73 \text{ mg g}^{-1}$ ) e tiouréia – formaldeído ( $29,55 \text{ mg g}^{-1}$ ).

CHEN *et al.* (2012) avaliaram o potencial da sericina comercial para a remoção seletiva de corantes sintéticos. Devido à composição característica da sericina e as características específicas dos corantes avaliados, observou-se a fixação de corantes de caráter ácido (Amarelo Acido n° 34) em pH abaixo de ponto de carga zero da proteína, próximo a 3,5; em virtude da protonação dos grupos amidas ( $-\text{NH}_3^+$ ) presentes nos aminoácidos majoritários e da presença dos grupos sulfônicos com carga líquida negativa ( $-\text{SO}_3^-$ ), o que tornou a adsorção do corante favorável por mecanismos eletrostáticos. No mesmo estudo, não foi possível a biossorção do corante Azul de Metileno (caráter básico) independente do pH em decorrência dos efeitos repulsivos das cargas.

## 2.2 PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

O processo de separação por membranas (PSM) consiste na separação de dois ou mais componentes com uso de uma barreira seletiva. Podem-se separar líquidos dissolvidos e misturas de gases. Segundo CHERYAN (1986), membrana é uma região específica que promove a descontinuidade entre duas fases.

A membrana tem a capacidade de transportar determinados componentes mais eficazmente, retendo outros que fazem parte da mistura original, como se ilustra na FIGURA 2.4. O diferencial dos processos de separação por membranas, comparado aos processos tradicionais como a destilação, evaporação, e absorção, é a utilização de uma fase seletiva, a membrana. Esta fase, podendo ser sólida, líquida ou gasosa; introduz uma

interface entre o volume das correntes a serem separadas, acarretando vantagens de eficiência e seletividade na separação (MULDER, 1996).

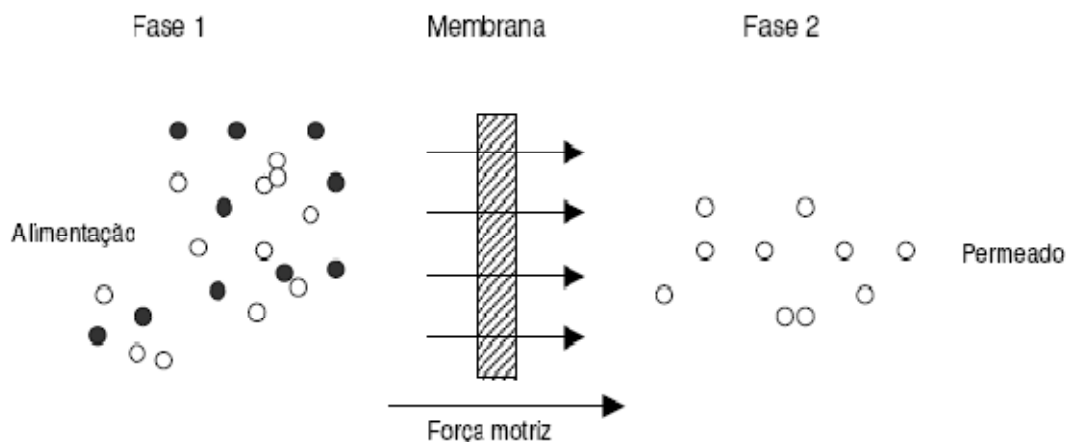


FIGURA 2.4 - ESBOÇO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS  
FONTE: MULDER, 1996.

No PSM, assim como nos tradicionais processos de separação, deve-se ter uma força motriz que atue como agente externo promovendo a separação dos componentes da corrente alimentada, sendo eles: gradiente de pressão hidráulica, potencial químico ou de campo elétrico. A variação da força motriz associada à especificidade da membrana lhe confere um uso específico (CHERYAN, 1986). A TABELA 2.2 apresenta aplicações dos diversos tipos e PSM, com os seus respectivos potenciais e gradientes.

De acordo com HABERT, BORGES e NOBREGA (2006), a forma construtiva da membrana delimita o processo. Para membranas porosas, Microfiltração e Ultrafiltração, a força motriz consiste em gradientes de pressão baixos em decorrência da baixa resistência à permeação do solvente promovida pela membrana porosa; enquanto que os processos com membranas porosas com diâmetro nominal de ordem atômica, tais como a Nanofiltração e a Osmose Inversa, o gradiente de pressão deve ser elevado para superar resistências adicionais, tais como a pressão osmótica. Nas membranas densas, de permeação de gases e de pervaporação, os mecanismos adsortivos e difusivos promovem a transferência de massa da alimentação para o permeado.

TABELA 2.2 - APLICAÇÕES E FORÇAS MOTRIZES DOS DISTINTOS PSM.

PROCESSO	FORÇA MOTRIZ <sup>1 2</sup>	MATERIAL RETIDO <sup>3</sup>	MATERIAL QUE PERMEIA	APLICAÇÕES
Microfiltração (MF)	$\Delta P$ (0,5 – 2 atm)	Material em suspensão Bactérias	Água e Sólidos dissolvidos	Esterilização Clarificação de vinhos e cervejas
Ultrafiltração (UF)	$\Delta P$ (1 – 7 atm)	Colóides Macromoléculas	Água Sais solúveis	Concentração de proteínas Recuperação de óleos
Nanofiltração (NF)	$\Delta P$ (5 – 25 atm)	Massa Molar média 500<MM<2.000	Água, sais e moléculas de baixo peso molecular.	Purificação de enzimas Bioreator Concentração de sucos
Osmose inversa (OI)	$\Delta P$ (15 – 80 atm)	Material solúvel e em suspensão	Água	Dessalinização e desmineralização de águas
Diálise (DI)	$\Delta C$	Moléculas de Massa Molar > 5.000 Da	Íons e moléculas de baixa massa molecular	Hemodiálise Rim artificial
Eletrodiálise (ED)	Potencial Elétrico	Macromoléculas e Compostos não iônicos	Íons	Purificação de águas Concentração de soluções salinas
Permeação de gases (PG)	$\Delta P$ e $\Delta C$	Gás menos permeável	Gás mais Permeável	Fracionamento do ar Recuperação de Hidrogênio
Pervaporação (PV)	PRESSÃO DE VAPOR	Líquido menos Permeável	Líquido mais Permeável	Desidratação de alcoóis

FONTE: ADAPTADO DE HABERT, BORGES E NOBREGA, 2006.

NOTA: 1 –  $\Delta C$ : GRADIENTE DE CONCENTRAÇÃO, 2 –  $\Delta P$ : GRADIENTE DE PRESSÃO, 3 – MM: MASSA MOLAR.

As especificidades presentes nos processos por membranas tornam esta tecnologia muito robusta, podendo competir com os diversos processos tradicionais. Como vantagens têm-se: o baixo consumo de energia, possibilidade de operar à temperatura ambiente; custos reduzidos de operação devido à ausência de aditivos químicos na operação; a alta seletividade e a facilidade de *scale-up* com a possibilidade de operação em regime contínuo em sistemas tangenciais em unidades compactas (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

### 2.2.1 Ultrafiltração

A ultrafiltração é o processo de separação por membranas porosas com diâmetro nominal de poro da ordem de 0,1  $\mu\text{m}$  a 1000 nm. Em contraste com os processo de Microfiltração, a Ultrafiltração permite a retenção de macromoléculas e substância solúveis, sendo amplamente aplicada para recuperação e fracionamento de proteínas (CHERYAN, 1986).

FABIANI *et al.* (1996) promoveram o tratamento de soluções aquosas da degomagem da sericina obtidas a partir do processo de remoção aquosa a 130 °C, solução da qual caracterizaram com concentração de sericina entre 1,0 a 1,5 % (m/V),  $\text{DBO}_5$  de 360  $\text{mg L}^{-1}$  e carbono orgânico total (COT) de 1619  $\text{mg L}^{-1}$ ; em distintas configurações de membrana, com diâmetros de corte variáveis entre 15 kDa e 30 kDa. Os resultados expressaram alta retenção da sericina, variando de 71 % a 90 %, com um efluente tratado com concentração de sericina variável entre 0,1  $\text{g L}^{-1}$  a 1,9  $\text{g L}^{-1}$  e COT variando de 0,9  $\text{g L}^{-1}$  a 2,4  $\text{g L}^{-1}$ . Entretanto, quedas de fluxo de permeado elevadas foram observadas, obtendo fluxo de permeado da ordem de 1,1  $\text{L m}^{-2} \text{h}^{-1}$  ao final do processo.

CAPAR, AYGUN e GECIT (2009) avaliaram processos combinados de centrifugação, cristalização e ultrafiltração (5 kDa), para a recuperação da sericina de um efluente de degomagem alcalina da indústria de seda da Turquia, com COT variando entre 51500  $\text{mg L}^{-1}$  a 55100  $\text{mg L}^{-1}$  e concentração de sericina variando entre 25,0  $\text{g L}^{-1}$  a 27,6  $\text{g L}^{-1}$ . O melhor desempenho obtido foi à combinação de todos os processos avaliados, resultando na remoção de 92 % de sericina, redução de 92% do COT e total retenção dos ácidos graxos livres presente no efluente. A redução do fluxo de permeado na região pseudo-estacionária foi da ordem de 60 %.



### 2.2.2 Fenômenos que limitam o fluxo de permeado

O fluxo de permeado representa uma variável crítica para qualquer processo com membranas. Buscam-se a maximização da taxa de permeação e o ajuste das características de seletividade desejadas ao processo.

Entretanto, alguns aspectos inerentes à operação com membranas conduzem a uma redução significativa da taxa de permeação, tais como: a formação da camada de gel precipitada ou a torta filtrante; *fouling* (os efeitos de bloqueio e selamento de poros ou a incrustação interna); ou a camada de polarização (perfil de concentração entre a região próxima à superfície e a mais distante próxima ao centro do canal, que promove fluxo retrodifusivo contrario ao sentido de permeação) (CHERYAN, 1986; MULDER, 1996).

Ilustra-se na FIGURA 2.5 um perfil típico da variação do fluxo de permeado ao longo do tempo em função dos fenômenos resistivos que acontecem. Nos primeiros instantes, observa-se um declínio acentuado do fluxo em relação ao solvente puro devido à formação de uma alta concentração de soluto na superfície da membrana. O declínio do fluxo continua com o tempo, mas de maneira lenta e gradual, em virtude da formação de outros mecanismos resistivos, definidos como *fouling* (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

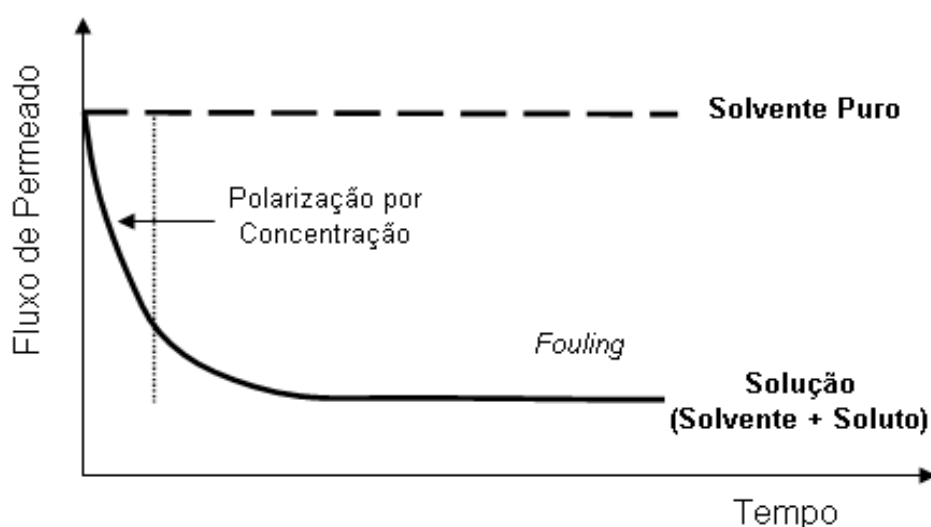


FIGURA 2.5 - QUEDA DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO DE OPERAÇÃO  
FONTE: HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006.

### 2.2.3 Camada de Polarização

Durante o processo com membranas, o soluto é conduzido à superfície da membrana por transporte convectivo, devido ao movimento exercido pela solução de alimentação. Este processo resulta em um aumento da concentração local do soluto na superfície da membrana quando comparada à concentração na corrente de alimentação. Esta diferença gera um perfil de concentração, favorecendo a difusão do soluto da superfície da membrana à solução. Esta difusão do soluto promove um fluxo da superfície da membrana em direção ao seio da solução (BHATTACHARJEE; DATTA, 1996).

Análogo à camada limite de velocidade, existe uma camada limite de concentração entre a região próxima à superfície da membrana, de alta concentração; e a de baixa concentração, igual à da corrente de alimentação. Esta camada limite tende a ser de espessura diferente da camada limite hidrodinâmica devido aos mecanismos de transporte envolvidos: a transferência de massa por difusão molecular, cujo mecanismo está associado à camada de polarização, apresenta-se mais lenta que o transporte convectivo, associado à transferência de quantidade de movimento (BARROS *et al.*, 2003).

### 2.2.4 Foulings

Além dos fenômenos ocasionados pela hidrodinâmica do sistema, têm-se fatores relacionados à própria natureza da membrana e as interações entre ela e o soluto. O conjunto desses efeitos denomina-se *fouling*. Dentre estes fatores, destacam-se (MERIN; DAUFIN, 1990):

- Adsorção do soluto na membrana: processo ocasionado pelas interações físico-químicas existentes entre o material da membrana e os componentes presentes na solução a ser tratada. O fenômeno de adsorção pode ocorrer tanto na superfície da membrana quanto na superfície interna dos poros.

- Entupimento dos poros: consiste da ação mecânica de obstrução das partículas ou moléculas envolvidas, sobre os poros da membrana. A extensão deste fenômeno depende também da morfologia da membrana. Para membranas assimétricas, este efeito ocorre predominantemente na superfície, pois é nesta região que se apresentam as menores dimensões de poros.

- Depósito superficial das espécies presentes na solução: representa a formação de um filme na superfície da membrana, que com um elevado grau de compactação, reduz o fluxo de permeado.

Quando a solução consiste de partículas suspensas, a formação do filme processa-se por depósito gerando a torta filtrante similar a filtração clássica, com características de compactação e porosidade específicas. Nos casos em que a solução processada consiste de macromoléculas (polissacarídeos e proteínas) pode ocorrer à precipitação em forma de gel devido à elevação da concentração das espécies na superfície da membrana.

O *fouling* é um fenômeno indesejável e de difícil compreensão. Muitos fatores interferem na extensão do *fouling*, dentre os quais:

- Propriedades físico-químicas e morfologia da membrana, tais como a natureza da membrana, a distribuição e o tamanho de poros;
- Propriedades físico-químicas da solução a ser filtrada, como o pH, a estrutura química e a concentração das espécies presentes;
- Parâmetros de operação, como a pressão transmembrana aplicada, temperatura e velocidade tangencial superficial.

A seleção das condições de operação é de fundamental importância para a minimização do *fouling* e consequente melhoria da operação, com a maximização do fluxo de permeado e de seletividade do processo.

#### 2.2.5 Modelos de transporte para processos de ultrafiltração

Os projetos e aplicações de sistemas de processos de separação por membranas dependem do desenvolvimento de modelos preditivos, que relacionam as variáveis de processo com os parâmetros do sistema. Como variável crítica do processo, o fluxo de permeado representa um dos

parâmetros mais relevantes para avaliar o desempenho do sistema (KOLTUNIEWICZ; NOWORYTA, 1995). Diversos trabalhos foram realizados com o intuito de desenvolver modelos matemáticos que descrevam o comportamento do processo e as diversas variáveis.

Os modelos fenomenológicos fazem uso das equações de transporte para descrição do fluxo de permeado ao longo de toda a extensão da superfície da membrana, tanto para a condição de regime pseudo-estacionário quanto para a região inicial de operação. Estes modelos pautam-se nas equações da continuidade, da quantidade de movimento e da conservação da massa. Entretanto, diversas simplificações são adotadas para os modelos fenomenológicos serem passíveis de resolução. Algumas das simplificações mais usuais seguem descritas abaixo (PARIS; GUICHARDON; CHARBIT, 2002):

- Propriedades do fluido, tais como densidade e viscosidade, são constantes e similares às do solvente puro;
- Efeitos de dispersão axial desprezíveis;
- A componente longitudinal de velocidade desprezível;
- Configuração de coordenadas aproximada ao problema, tais como cartesiana ou cilíndrica.
- O escoamento do fluido deve ser em regime laminar (regime no qual as equações de quantidade de movimento são válidas);
- Modelo do perfil de velocidade axial conhecido.

#### 2.2.6 Modelos macroscópicos para meios porosos

Os primeiros modelos aplicados a processos por membranas partiram da definição de escoamento de fluido em leito poroso (MULDER, 1996). O modelo tradicional de Hagen-Poiseuille considera poros cilíndricos uniformes e o comprimento de cada cilindro sendo igual ao tamanho do poro; enquanto que o modelo de Kozeny-Carman conjectura um sistema composto por uma matriz esférica regular, com os poros representando os interstícios destas esferas. Os respectivos modelos seguem descritos nas equações 2.1 e 2.2:

$$J = \frac{\varepsilon \cdot r^2}{8 \cdot \mu \cdot \tau} \cdot \frac{dP}{dz} \quad 2.1$$

$$J = \frac{\varepsilon^2}{K_{KC} \cdot \mu \cdot S^2 \cdot (1 - \varepsilon)} \cdot \frac{dP}{dz} \quad 2.2$$

Onde cada termo representa:

$\varepsilon$  – porosidade superficial da membrana

$r$  – raio médio dos poros

$\mu$  – viscosidade da solução que permeia a membrana

$\tau$  – tortuosidade do poro

$dP/dz$  – variação da pressão  $P$  na espessura da membrana  $z$

$S$  – área superficial da membrana por unidade de volume

$K_{KC}$  – constante de Kozeny-Carman

$J$  – fluxo de permeado.

Estes modelos não fazem qualquer tipo de associação com os efeitos resistivos do fluxo de uma solução sobre uma membrana. De acordo com os modelos descritos em 2.1 e 2.2, o fluxo é diretamente proporcional ao gradiente de pressão exercido e inversamente proporcional a viscosidade da solução. A equação 2.1 apresenta-se dependente de alguns fatores característicos da membrana tais como porosidade, raio médio do poro e tortuosidade.

Expressando os modelos descritos em 2.1 e 2.2 em termos de variação global da pressão  $\Delta P$  e espessura  $\Delta z$ , estes modelos podem ser aproximados a um modelo descrito em termos da permeabilidade hidráulica  $P_H$ , expressa na forma geral da equação 2.3:

$$J = P_H \cdot \Delta P \quad 2.3$$

Assim, o valor de fluxo  $J$  torna-se um valor médio, e o  $P_H$  representa o valor de permeabilidade máxima da solução na membrana. As equações 2.4 e 2.5 demonstram a definição de  $P_H$  de acordo com os modelos de Hagen-Poiseuille e Kozeny-Carman, respectivamente:

$$P_H = \frac{\varepsilon \cdot r^2}{8 \cdot \mu \cdot \tau \cdot \Delta z} \quad 2.4$$

$$P_H = \frac{\varepsilon^2}{K_{KC} \cdot \mu \cdot S^2 \cdot (1 - \varepsilon) \cdot \Delta z} \quad 2.5$$

### 2.2.7 Modelo de bloqueio de poros

Estes modelos, desenvolvidos por FIELD *et al.* (1995), foram adaptados da lei de bloqueio da filtração clássica a pressão constante descrita por Hermia<sup>1</sup> (1982), de acordo com a equação 2.6:

$$\frac{dt^2}{dV^2} = K_n \cdot \left( \frac{dt}{dV} \right)^n \quad 2.6$$

Onde:

$V$  – volume de permeado obtido em um instante de tempo

$t$  – instante de tempo avaliado

$K_n$  – coeficiente experimental de bloqueio de poro

$n$  – coeficiente experimental que determina o mecanismo de bloqueio dos poros

Os modelos propostos por FIELD *et al.* (1995) podem ser generalizados em uma expressão em termos de fluxo de permeado,  $J$ , descrita pela equação 2.7.

$$\frac{dJ}{dt} = -K_n \cdot (J - J^*) \cdot J^{2-n} \quad 2.7$$

Os parâmetros  $n$  e  $K_n$  são oriundos da equação 2.6 e o termo descrito por  $J^*$  refere-se a um valor de equilíbrio do fluxo denominado de fluxo crítico,

---

<sup>1</sup> HERMIA, J. Constant pressure blocking filtration laws – application to power-law non-Newtonian fluids. Transactions of the Institution of Chemical Engineers, v. 60, p. 183 – 187, 1982.

onde não há a formação do *fouling*. A partir da equação 2.7 derivam-se os modelos que representam os modos de bloqueio de poros, que são ocasionados no processo devido à relação entre o tamanho e forma do soluto retido e a distribuição de poros da membrana (BARROS *et al.*, 2003).

Os modelos avaliados na prática são ilustrados na FIGURA 2.6 e classificados a seguir:

- Bloqueio completo dos poros – Figura 2.6(a)
- Bloqueio parcial dos poros – Figura 2.6(b)
- Formação da torta – Figura 2.6(c)
- Bloqueio interno dos poros – Figura 2.6(d)

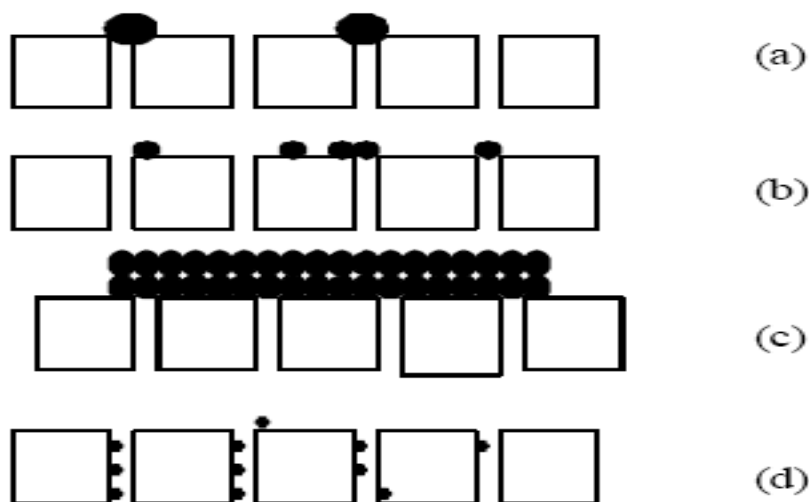


FIGURA 2.6 - MECANISMOS DE *FOULING*.  
FONTE: ADAPTADO DE BARROS *et al.*, 2003.

Segue nos próximos tópicos uma descrição geral de cada um dos modelos oriundos da equação 2.7 e suas respectivas expressões matemáticas, conforme FIELD *et al.* (1995) e BARROS *et al.* (2003).

#### a) Bloqueio completo dos poros

Observa-se um bloqueio superficial, ou bloqueio completo dos poros, em situações onde as partículas retidas pela membrana apresentam tamanho médio maiores que o tamanho da abertura dos poros. Nesta circunstância, o material tende obstruir o poro na sua abertura, como ilustra a FIGURA 2.6 (a).

A equação 2.8 representa o modelo de bloqueio superficial dos poros, sendo que o valor do índice de bloqueio  $n$  adotado é 2,0:

$$J(t) = J_{LIM} + (J_o - J_{LIM}) \cdot \exp(-K_{2,0} \cdot t) \quad 2.8$$

Em que:

$J_{LIM}$  – fluxo de permeado limite obtido quando o processo atinge a condição de fluxo pseudo-estacionário;

$J_o$  – fluxo de permeado inicial.

b) Bloqueio parcial dos poros

O bloqueio parcial é considerado quando as partículas que chegam à superfície do poro o selam. As partículas neste caso apresentam tamanhos próximos ao do poro e tendem a se aglutinar em regiões específicas do mesmo. Pode ocorrer agregação de partículas no poro que exercem um efeito de obstrução, mas não de forma completa como ilustra a FIGURA 2.6 (b).

A equação 2.9 descreve o modelo de bloqueio parcial dos poros, sendo que o valor do índice de bloqueio  $n$  adotado é 1,0:

$$K_{1,0} \cdot t = \frac{1}{J_{LIM}} \cdot \ln \left[ \frac{J_o - J_{LIM}}{J_o} \cdot \frac{J(t)}{J(t) - J_{LIM}} \right] \quad 2.9$$

c) Bloqueio interno dos poros

Este modelo considera que as partículas apresentam tamanhos menores que a abertura dos poros e que tendem a serem retidas no interior do poro devido a adsorção com a parede do poro ou por deposição nas cavidades internas, como se visualiza na FIGURA 2.6 (d).

Como a obstrução processa-se internamente, a redução da abertura do poro pela obstrução torna-se independente das condições de escoamento, em especial da velocidade tangencial, ou seja, o fluxo crítico não é obtido, sendo neste caso nulo. O modelo, obtido a partir de um índice de bloqueio ( $n = 1,5$ ), segue descrito pela equação 2.10:



$$\frac{1}{\sqrt{J(t)}} = \frac{1}{\sqrt{J_0}} + K_{1,5} \cdot t \quad 2.10$$

d) Formação da torta

Este modelo considera o efeito das partículas que não entram nos poros e que se aglomeram com as depositadas na superfície, formando uma resistência adicional ao processo, que é a torta filtrante, conforme se observa na FIGURA 2.6 (c).

A equação 2.11 descreve o modelo da formação da torta, considerando um índice de bloqueio ( $n = 0$ ) e como parâmetro experimental  $k_0$

$$K_0 \cdot t = \frac{1}{J_{LIM}^2} \cdot \left[ \ln \left( \frac{J(t)}{J_0} \cdot \frac{J_0 - J_{LIM}}{J(t) - J_{LIM}} \right) - \frac{1}{J_{LIM}} \cdot \left( \frac{1}{J(t)} - \frac{1}{J_0} \right) \right] \quad 2.11$$

### 2.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Até o início da década de noventa, difundia-se no setor industrial que o tratamento de água deveria atender as finalidades como: remoção de bactérias, protozoários, vírus, compostos orgânicos, a redução de substâncias nocivas e de impurezas, metais, entre outros (BENINCÁ, 2012).

Atualmente, os processos de tratamento de efluentes buscam minimizar o impacto sobre os corpos hídricos e atender a legislação ambiental vigente. No Brasil, o órgão que estabelece os padrões mínimos de qualidade do efluente é o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

A resolução vigente que normatiza os padrões de qualidade do efluente é a Resolução n° 430 de 13 de maio de 2011, que atualiza a Resolução n° 357, de maio de 2005. No Estado do Paraná, há a resolução CEMA 70/2009 elaborada pela Secretaria Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (SEMA) e o Conselho Estadual do Meio Ambiente (CEMA), que dispõe sobre os procedimentos de licenciamento ambiental, e as condições e critérios específicos para diversos tipos de indústrias. Esta resolução apresenta a

diretriz a qual os projetos industriais de sistemas e controle de poluição ambiental devem atender para minimizar ou eliminar as fontes poluidoras (BENINCÁ, 2012).

Os métodos de tratamento estão diretamente associados ao tipo de efluente gerado, ao controle operacional da indústria e às características da água utilizada. Quanto às características inerentes aos efluentes oriundos da indústria de alimentos, diversos parâmetros devem ser considerados, destacando-se: carga orgânica presente, característica química (proteína, carboidratos, lipídios, corantes sintéticos e naturais) e composição; presença e quantidade de sólidos suspensos e dissolvidos; a demanda bioquímica e química de oxigênio; e a variabilidade do pH. Salienta-se ainda, que as indústrias alimentícias apresentam alto consumo de água, tanto no processo produtivo quanto de utilidades; de forma a gerar alto volume de efluentes líquidos (GALAMBOS *et al.*, 2004).

As operações unitárias empregadas nos processos de tratamento de efluentes podem ser classificadas de acordo com a natureza do processo de tratamento (DAVIS; CORNWELL, 1998):

- Tratamento preliminar: estágio do tratamento no qual se efetua a remoção física de sólidos grosseiros e materiais suspensos, de forma a reduzir a carga contaminante a ser tratada nos estágios subsequentes. As operações unitárias mais usuais são: gradeamento, peneiramento, filtro de areia e tanque de equalização.

- Tratamento primário: estágio de tratamento em que se removem partículas inorgânicas, suspensões coloidais e sólidos suspensos que não são removidos no tratamento preliminar, mediante combinação de mecanismos físicos e químicos de separação. As operações unitárias usuais encontradas em tratamentos primários são: decantação, separadores centrífugos, coagulação, floculação, flotação e precipitação química.

- Tratamento secundário: estágio de tratamento biológico, no qual a matéria orgânica é degradada mediante processos biológicos aeróbicos e anaeróbicos. Destacam-se as seguintes operações unitárias: lodos ativados, lagoas ativadas, filtros biológicos, biodigestores e lagoas de polimentos.

- Tratamento terciário: estágio de tratamento específico de determinados contaminantes que não são removidos nos tratamentos anteriores, como

determinados metais e compostos orgânicos complexos (dentre os quais os corantes sintéticos industriais). Neste grupo, as operações unitárias mais aplicadas são: processos de adsorção e troca iônica, separação por membranas (ultrafiltração e osmose reversa), processo de oxidação química avançada (processo Fenton, Foto-fenton, ozonólise) e biorreatores com membrana.

Dentre os inúmeros compostos contaminantes que são despejados em corpos de água provenientes das atividades industriais, enfatizam-se os despejos contendo corantes sintéticos e os metais pesados. Estes tipos de resíduos são contaminantes presentes nos efluentes industriais que, mesmo em pequenas concentrações, provocam grande impacto ambiental e são de complexo tratamento (BANAT; AL-ASHED; AL-ROUSAN, 2002; SULAK *et al.*, 2012).

Neste contexto, os processos de adsorção apresentam-se como alternativas tecnológicas viáveis para o tratamento de efluentes contendo contaminantes de difícil tratamento por meio dos processos tecnológicos tradicionais.

### 2.3.1 Cobre

Os metais pesados são definidos como os elementos que possuem densidade relativa superior a seis, sendo muitos deles essenciais nas funções biológicas como micronutrientes. A presença de metais pesados em concentrações acima das necessárias para funções biológicas ocasionam severos impactos à saúde humana e ao bem estar do seres vivos. (SARGENTELLI; CASTRO; MASSABNI, 1996; BARKA *et al.*, 2010).

O cobre representa um dos mais abundantes íons metálicos presentes na natureza. Os estados de oxidação mais comuns verificados para o cobre são:  $\text{Cu}^0$  (estado metálico),  $\text{Cu}^+$  e  $\text{Cu}^{2+}$  (estado de valência mais comum, encontrado em meios aquáticos a pH próximo do neutro). É encontrado em grande variedade de sais minerais e compostos orgânicos, assim como na forma metálica. Os íons  $\text{Cu}^{2+}$  ligam-se preferencialmente ao oxigênio, na

presença dos anions  $\text{OH}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e grupos orgânicos fenólicos, carboxílicos, aminas, entre outros (citado em NOR, 1980).

O cobre é comumente utilizado na confecção de utensílios domésticos e de componentes para os sistemas de distribuição de água e energia elétrica. Em processos industriais, verifica-se a presença de cobre no refino de petróleo, na rota de síntese de corantes sintéticos, na mineração, na fabricação de produtos cerâmicos e de vidros, na confecção de fertilizantes, fungicidas, entre outros (GUPTA *et al.*, 2006; SLJIVIC *et al.*, 2012).

No segmento agroindustrial, o cobre é inserido como aditivo em ração animal, promotores de crescimento, e em controle de doenças em animais e aves domésticas (KOSASIH *et al.*, 2010). Destaca-se, ainda, a presença de cobre como material constituinte de equipamentos de processo, notadamente nos destiladores artesanais de alambiques para a produção de bebidas destiladas, tais como a cachaça.

No caso da produção de cachaça, diversos estudos relatam o incremento da qualidade sensorial de produtos destilados mediante equipamentos a base de cobre metálico, em comparação a equipamentos com materiais de uso comum na indústria de alimentos como o aço inox (AZEVEDO *et al.*, 2003; CARDOSO; NETO; FRANCO, 2003). Os resíduos produzidos e o efluente gerado da etapa de higienização dos equipamentos podem ocasionar o lançamento de efluentes contendo resíduos de cobre ao meio.

De acordo com a Resolução CONAMA 430/2011, o limite máximo admissível de Cobre em lançamentos de efluente em corpo d'água, é de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Conforme relatório descrito pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA - USA) o limite máximo admissível para ingestão de cobre ao organismo é de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  (KOSASIH *et al.*, 2010).

O metabolismo do cobre envolve tanto os aspectos funcionais quanto o toxicológico. O cobre representa um micronutriente essencial, sendo incorporado a diversas proteínas com finalidades catalíticas e estruturais. Quando a exposição e a absorção são excessivas (além do controle homeostático) acarretam na hipercuprimia, afetando o sistema gastrointestinal, tendo como efeitos: dores gástricas, náuseas, hemorragia, falha no fígado e nos rins (SARGENTELLI; CASTRO; MASSABNI, 1996; KOSASIH *et al.*, 2010).

### 2.3.2 Corantes sintéticos

No setor alimentício os corantes representam uma classe de aditivos sem valor nutritivo aos alimentos, tendo a finalidade apenas de conferir ou ajustar a cor dos alimentos de forma a melhorar o aspecto visual e, assim, a sua aceitação junto ao consumidor (HUANG; SHIH; CHEN, 2002). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1977) define os corantes como “substâncias, ou mistura de substâncias, que apresentam a propriedade de conferir ou intensificar a coloração dos alimentos ou bebidas”, sendo classificados como:

- Orgânico natural: corantes de origem vegetal ou animal.
- Orgânicos sintéticos: corantes obtidos por síntese orgânica, com composição química específica, podendo ser *artificial* (corante que existe em produtos naturais) ou *orgânico sintético idêntico ao natural* (corante cuja estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado do corante orgânico natural).
- Inorgânicos: corantes oriundos de substâncias minerais.
- Caramelo: corante obtido a partir do aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão dos mesmos, de forma a promover as reações de caramelização, conferindo cor característica.

Os corantes orgânicos sintéticos são os corantes mais utilizados nos processos industriais, especialmente na indústria têxtil e de alimentos; em decorrência da alta estabilidade (luz, oxigênio e pH), alta solubilidade em água, e o baixo custo de produção industrial. Na indústria de alimentos destaca-se o uso na indústria de bebidas e indústrias produtoras de balas, doces, geléias e sobremesas em pó (ENAYATZAMIR *et al.*, 2009).

Os corantes orgânicos sintéticos permitidos em alimentos no Brasil são: Tartrazina (E-102), Amarelo crepúsculo (E-110), Azorrubina (E-122), Bordeaux S ou Amaranto (E-123), Ponceau 4R (E-124), Eritrosina (E-127), Vermelho 40 (E-129), Azul Patente V (E-131), Indigotina (E-132), Azul Brilhante (E-133) e Verde Rápido (E-143) (PRADO; GODOY, 2007).

Destaca-se, dentre os corantes sintéticos o Bordeaux S (ácido 3-hidróxi-4-(4-sulfo-1-naftil-azo)-naftaleno-2,7-di-sulfonato, usualmente denominado como amaranto – FIGURA 2.7), comumente utilizado como agente de

tingimento têxtil, de papéis, de resinas fenólicas e madeira devido à boa estabilização quando exposto à luz e aos meios ácidos.

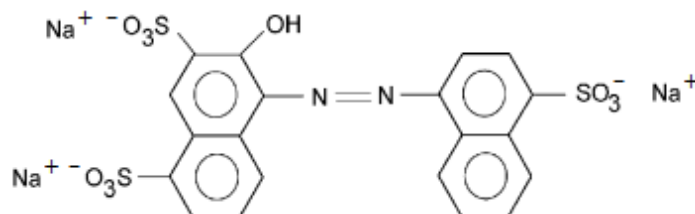


FIGURA 2.7 - ESTRUTURA QUÍMICA DO CORANTE BORDEAUX S.  
FONTE: ADAPTADO DE ZARGAR; PARHAM; HATAMIE, 2009.

Embora seja legalmente utilizado no Brasil como corante alimentício em geléias, balas, ketchup e bebidas; atualmente o uso deste corante vem sido amplamente questionado, tendo estudos indicando que o seu consumo excessivo associado a efeitos adversos à saúde, tais como problemas alérgicos e respiratórios e efeitos carcinogênicos (citados por ZARGAR; PARHAM; HATAMIE, 2007; JESUS *et al.*, 2011).

A legislação brasileira não possui um critério definido caracterizando um limite aceitável para a presença de corantes em corpos d'água, em decorrência da imensa variedade de corantes sintéticos utilizados nos processos industriais. Portanto, a remoção integral dos mesmos do meio aquático faz-se necessária para o atendimento aos preceitos de sustentabilidade.

A presença de corantes sintéticos nos efluentes industriais representa um significativo impacto ambiental. Mesmo em baixas concentrações, da ordem de 1,0 ppm, estes compostos conferem grande impacto visual nos corpos d'água. Além do efeito visual incompatível, estes compostos interferem no equilíbrio do meio aquático, interferindo na transmissão de luz, na redução do efeito fotossintético e na toxidez sobre a fauna e a flora marinha (citado por JESUS *et al.*, 2011).

Devido à baixa biodegradabilidade dos corantes sintéticos presentes nos efluentes industriais, dentre os quais o corante sintético Bordeaux S se enquadra, os processos de tratamento físico e biológico convencionais não são efetivos para a devida remediação. Dessa forma, processos tecnológicos específicos, tais como a adsorção, devem ser aplicados para a remoção destes contaminantes.

### 2.3.3 Bioissorção

O processo de adsorção conduzido por biomateriais, denominado bioissorção, surge como alternativa aos processos convencionais para o tratamento de efluentes, notadamente ao tratamento de soluções contendo baixas concentrações de contaminantes (FEBRIANTO *et al.*, 2009).

Em comparação com os processos usuais de tratamento de efluentes para contaminantes diluídos, (coagulação química, troca iônica, osmose inversa) os processos de bioissorção apresentam custos de implantação e operação reduzidos; uso reduzido de compostos químicos auxiliares ao processo; redução do resíduo sólido final; alta eficiência para sistemas com concentrações diluídas e capacidade de retenção para distintos tipos de contaminantes (KRATOCHIVIL; VOLESKY, 1998).

A bioissorção é definida como um processo de adsorção no qual o material sólido de origem vegetal ou animal e seus derivados (bioissorvente) são utilizados para remoção de determinado adsorvato do meio aquoso (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997). O processo de bioissorção ocorre em decorrência das interações físico-químicas entre os grupos funcionais dos biomateriais ( $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SO}_4^{2-}$ ,  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{PO}_4^{2-}$ ) e os íons metálicos ou os contaminantes orgânicos contendo grupos funcionais com carga elétricas líquidas, caso de corantes sintéticos contendo grupos funcionais ( $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{SO}_3^-$ ) que são carregados em função do pH da solução (MITTAL; KURUP; GUPTA, 2005, CHEN *et al.*, 2012).

A capacidade dos bioissorventes de recuperar contaminantes contidos em efluentes industriais depende de suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Diversos estudos relatam o uso de algas, bactérias e fungos (MATIS; ZOUBOLIS; LAZARIDIS, 2003; PAVASANT *et al.*, 2006; ERGENE *et al.*, 2009; VELKOVA; STOYCHEVA; GOCHEV, 2012). Outros estudos ilustram o uso de resíduos agroindustriais (HO; MCKAY, 2003; GONG *et al.*, 2005; KARNITZ *et al.*, 2007; EL HADDAD *et al.*, 2012) e de compostos orgânicos (polissacarídeos e proteínas) de origem vegetal e animal (MITTAL; KURUP; GUPTA, 2005; JESUS *et al.*, 2011; DOTTO; VIEIRA; PINTO, 2012) para a remoção de metais pesados e corantes sintéticos.

### 2.3.4 Cinética de bioadsorção

A cinética de adsorção revela a influência do tempo de contato entre adsorvato e adsorvente sobre a quantidade adsorvida. Diversos fenômenos podem ser associados ao mecanismo de adsorção, destacando: difusão das moléculas do seio da fase fluida para a região interfacial (difusão externa), difusão das moléculas na superfície (difusão superficial), difusão das moléculas no interior dos poros (difusão interna) e o processo elementar de adsorção e dessorção (QIU, 2009).

Dentre os modelos mais empregados, destacam-se os modelos derivados da relação de Lagergren (pseudo-primeira ordem) e o modelo de Ho e Mckay de pseudo-segunda ordem (HO; MCKAY, 1999; FEBRIANTO *et al.*, 2009); os modelos de difusão intrapartícula de Weber e Moris e de Crank (QIU, 2009); e o modelo de transferência de massa em filme externo (PURANIK; MODAK; PAKNIKAR, 1999; PONNUSAMI; RAJAN; SRIVASTAVA, 2010).

O modelo cinético de primeira ordem, oriundo da relação de Lagergren, consiste em uma relação diferencial de primeira ordem entre a variação da massa adsorvida e a concentração do soluto no meio. A equação de pseudo-primeira ordem de Lagergren é expressa conforme equação 2.12.

$$\frac{dq}{dt} = K_1 \cdot [q_{EQ} - q] \quad 2.12$$

Sendo:  $q_{EQ}$  e  $q$  as quantidade de soluto por massa de adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ ) no equilíbrio e no tempo  $t$ , respectivamente, e  $K_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) é a constante cinética de primeira ordem.

A integração da equação diferencial descrita pela equação 2.12, considerando a condição inicial, equação 2.13, resulta no modelo cinético de pseudo-primeira ordem, descrito pela equação 2.14.

$$t = 0 \quad q(0) = 0 \quad 2.13$$

$$q(t) = q_{EQ} \cdot [1 - \exp(-K_1 \cdot t)] \quad 2.14$$



O modelo proposto por HO e MCKAY (1999), conhecido por modelo de pseudo-segunda ordem, consiste em uma relação diferencial de segunda ordem entre a variação da massa adsorvida e a concentração do soluto no meio, descrito pela equação 2.15:

$$\frac{dq}{dt} = K_2 \cdot [q_{EQ} - q]^2 \quad 2.15$$

Sendo  $q_{eq}$  e  $q$  as quantidades de soluto por massa de adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ ) no equilíbrio tempo  $t$ , respectivamente, e  $K_2$  ( $\text{min}^{-1}$ ) é a constante cinética de segunda ordem. A integração da equação diferencial descrita pela equação 2.15, considerando a condição inicial, equação 2.16, resulta no modelo cinético de pseudo-segunda ordem, descrito pela equação 2.17.

$$t = 0 \quad q(0) = 0 \quad 2.16$$

$$q(t) = \frac{t \cdot q_{EQ}^2 \cdot K_2}{1 + t \cdot K_2 \cdot q_{EQ}} \quad 2.17$$

Dentre os modelos de difusão intrapartícula destacam-se os modelos de Weber e Morris e de Crank (FEBRIANTO *et al.*, 2009; QIU, 2009). O modelo de difusão intrapartícula proposto por Weber e Morris (1962) *apud* PAVASANT *et al.* (2006) segue uma relação entre a massa adsorvida e a raiz quadrada do tempo de processo, conforme equação 2.18:

$$q(t) = K_{WM} \cdot \sqrt{t} \quad 2.18$$

Sendo  $K_{WM}$  o coeficiente de difusão intrapartícula do modelo de Weber e Moris.

O modelo de Crank (1956) *apud* QIU (2009) representa a solução exata da equação diferencial do modelo de difusão em sólido homogêneo (QIU, 2009). O modelo diferencial, equação 2.19, considera o efeito difusivo de determinado soluto sobre um adsorvato uniforme e esférico.

$$\frac{dq(t)}{dt} = \frac{D}{r^2} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left[ r^2 \cdot \frac{\partial}{\partial r} q(t) \right] \quad 2.19$$

Sendo:  $D$  o coeficiente de difusão intrapartícula e  $r$  a coordenada radial referente à dimensão das partículas. O modelo de Crank assume:

- Resistência do filme externo desprezível
- Partículas esféricas de raio  $R$ , homogêneas e isentas de soluto no início do processo.
- Coeficiente de difusão independente da concentração do meio.

A equação geral obtida para o modelo difusivo, para condição inicial descrita pela equação 2.20, é definida por 2.21:

$$t = 0 \quad q(0, r) = 0 \quad 2.20$$

$$\frac{q(r, t)}{q_{EQ}} = 1 + \frac{2 \cdot R}{\pi \cdot r} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \cdot \text{sen}\left(\frac{n \cdot \pi \cdot r}{R}\right) \cdot \exp\left[\frac{-D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{R^2}\right] \quad 2.21$$

A partir da definição de média integral de uma propriedade em coordenadas esféricas (QIU, 2009), pode-se definir a massa adsorvida média  $Q$  conforme a equação 2.22:

$$Q = \frac{3}{R^3} \cdot \int_0^R q(r) \cdot r^2 \cdot dr \quad 2.22$$

Substituindo a expressão 2.22 em 2.21, obtém-se o modelo de Crank para difusão intrapartícula (equação 2.23) no qual  $K_c$  representa o coeficiente difusivo de Crank:

$$\frac{Q}{q_{EQ}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \cdot \exp[-K_c \cdot n^2 \cdot t] \quad 2.23$$

O modelo de transferência de massa em filme externo considera como resistência predominante a transferência de massa entre a solução e o filme líquido adjacente a superfície do adsorvente. Considera-se um sistema reacional em batelada, a volume constante, com concentração inicial  $C_0$ . O soluto é adsorvido pelo biossorvente até atingir o equilíbrio entre a solução adjacente à superfície do biossorvente (interface entre o biossorvente e a solução) e a solução. A concentração de equilíbrio da interface entre a solução

e o bioissorvente é variável ao longo do tempo devido à redução da concentração da solução reacional.

Como hipóteses para a formulação do sistema, adotam-se (PURANIK; MODAK; PAKNIKAR, 1999):

- O material bioissorvente possui área superficial homogênea.
- A concentração do soluto na solução é homogênea em todo o volume, por meio da homogeneização do meio.
- Difusão intrapartícula é desprezível, limitando o mecanismo de bioissorção estritamente superficial.
- Dessorção desprezível
- O volume reacional e a densidade do meio permanecem constantes durante o processo de adsorção.

O balanço de massa global para o sistema pode ser definido a partir da concentração de soluto inicial ( $C_o$ ), massa de adsorvente ( $m$ ) e volume de solução da batelada ( $V$ ), conforme a equação 2.24:

$$q(t) = [C_o - C(t)] \cdot \frac{V}{m} \quad 2.24$$

A taxa de transferência de massa externa da solução para a região adjacente à superfície do adsorvente pode ser descrita por um modelo convectivo, descrito conforme as equações 2.25 e 2.26:

$$\frac{dC}{dt} = -K_{TM} \cdot [C(t) - C_I(t)] \quad 2.25$$

$$C(t=0) = C_o \quad 2.26$$

Sendo:

$C$  - concentração do soluto na solução ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$C_I$  - concentração do soluto na solução adjacente ao adsorvente ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$C_o$  - concentração inicial do soluto na solução ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$K_{TM}$  - coeficiente de transferência de massa da fase líquida ( $\text{h}^{-1}$ )

$t$  - tempo (h)

Diferenciando a equação 2.24, obtêm-se a relação entre a variação da massa adsorvida e a variação da concentração do soluto na solução (equação 2.27):

$$\frac{dq}{dt} = \frac{d}{dt} \left[ \frac{V}{m} \cdot (C_o - C(t)) \right] = -\frac{V}{m} \frac{dC}{dt} \quad 2.27$$

Substituindo a equação 2.25 em 2.27, obtêm-se um modelo que relaciona a variação da massa adsorvida com a transferência de massa em filme externo (equação 2.28):

$$\frac{dq}{dt} = \frac{V}{m} \cdot K_{TM} \cdot [C(t) - C_I(t)] \quad 2.28$$

Assumindo que na interface do adsorvente com a solução ocorre o equilíbrio ( $C_I$ ), pode-se descrever a massa adsorvida por meio de isothermas de adsorção. Adotando-se a isoterma de Langmuir, equação 2.29, como modelo de equilíbrio, a variação da massa adsorvida ao longo do tempo pode ser definida pela diferenciação do modelo de Langmuir, conforme equação 2.30:

$$q(t) = \frac{q_{MAX} \cdot K_L \cdot C_I(t)}{1 + K_L \cdot C_I(t)} \quad 2.29$$

$$\frac{dq(t)}{dt} = \frac{q_{MAX} \cdot K}{(1 + K_L \cdot C_I)^2} \cdot \frac{dC_I(t)}{dt} \quad 2.30$$

Substituindo a equação 2.30 na equação 2.28 obtêm-se o modelo diferencial que descreve a dependência da concentração do soluto na interface do adsorvente em função do tempo, conforme a equação 2.31 e sua condição inicial, equação 2.32:

$$\frac{dC_I(t)}{dt} = \frac{V \cdot K_{TM}}{m \cdot q_{MAX} \cdot K_L} \cdot (1 + K \cdot C_I(t))^2 \cdot (C(t) - C_I(t)) \quad 2.31$$

$$C_I(t=0) = 0 \quad 2.32$$

A partir da resolução das equações diferenciais 2.25 e 2.31, associadas às respectivas condições iniciais 2.26 e 2.32, obtém-se o perfil da variação da concentração da solução ao longo do tempo, considerando apenas a resistência externa.

### 2.3.5 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção representam uma relação de equilíbrio termodinâmico entre a fase fluida e a fase sólida (biossorvente) a uma temperatura constante. As isotermas expressam a relação entre a quantidade de soluto sorvido por unidade de massa do biossorvente e a concentração do soluto na solução no equilíbrio. O cálculo da quantidade de soluto sorvido é baseado no balanço de massa dos sistemas de biossorção (RUTHVEN, 1984).

Os estudos de equilíbrio fornecem informações referentes à capacidade limite de retenção do soluto no biossorvente. O valor da capacidade máxima de biossorção é uma característica fundamental para descrição do desempenho do biossorvente e sua caracterização.

Os modelos de isotermas de adsorção podem ser derivados de relações empíricas ou mediante fundamentações fenomenológicas. Dos diversos modelos de isotermas de adsorção aplicados a processos de biossorção, os modelos tradicionais de Langmuir e Freundlich são os mais empregados (FEBRIANTO *et al.*, 2009).

O modelo de Langmuir foi originalmente desenvolvido para a descrição de um processo de sorção química irreversível, que ocorre em sítios uniformes com o recobrimento completo em monocamada e a afinidade iônica independente da quantidade de material adsorvido (RUTHVEN, 1984; KRATOCHIVIL, VOLESKY, 1998). Este modelo tem como hipóteses:

- O adsorvente possui um número definido de sítios disponíveis para a adsorção de determinado soluto.
- As moléculas são adsorvidas apenas na superfície do adsorvente nos sítios ativos definidos e localizados
- Cada sítio ativo interage com uma única espécie adsorvida.

- A adsorção em um sítio não interfere na adsorção nos sítios vicinais.
- A energia associada entre o soluto a ser adsorvido e o sítio adsorvivo é igual para todos os sítios da superfície.
- A interação entre o soluto adsorvido na superfície e o disponível em solução é desprezível, de forma que a única interação que ocorre é entre a superfície e o soluto, caracterizando a monocamada

A isoterma de Langmuir aplicada a processos em fase líquida, para as condições de equilíbrio estabelecidas, segue conforme a equação 2.33:

$$q_{EQ} = \frac{q_{MAX} \cdot K_L \cdot C_{EQ}}{1 + K_L \cdot C_{EQ}} \quad 2.33$$

Sendo:

$q_{EQ}$  – quantidade adsorvida no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$C_{EQ}$  – Concentração do soluto em solução no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$K_L$  – Constante do modelo de Langmuir ( $\text{L mg}^{-1}$ ), associada com as forças de interação entre o adsorvato e o adsorvente.

$q_{MAX}$  – capacidade limite de adsorção do adsorvente, obtida no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

A isoterma de Freundlich é uma expressão empírica. Este modelo é estendido à adsorção multicamadas, considerando a superfície heterogênea, de forma que a quantidade adsorvida tende a crescer com o aumento da concentração da solução. O modelo é representado pela equação 2.34 (SEADER; HENLEY, 2008):

$$q_{EQ} = K_F \cdot C_{EQ}^{\frac{1}{n}} \quad 2.34$$

Sendo  $K_F$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ( $\text{L mg}^{-1}$ ) $^{1/n}$  e  $n$  constantes empíricas.

O modelo de Temkin considera, de forma indireta, as interações entre as moléculas de adsorvato sobre a superfície do adsorvente. Este modelo assume que o processo adsorvivo é caracterizado por uma distribuição de energias de ligação entre as camadas adjacentes à superfície do adsorvente. Este modelo assume que o calor de adsorção das moléculas em determinada camada decai

linearmente com o grau de recobrimento da mesma, ocasionado pelo efeito da interação entre o adsorvato e o adsorvente (citado por CARPINÉ *et al.*, 2013). O Modelo de Temkin segue descrito na equação 2.35:

$$q_{EQ} = \frac{T \cdot R}{B} \cdot \ln[K_T \cdot C_{EQ}] \quad 2.35$$

Sendo  $T$  a temperatura do processo (K),  $R$  a constante dos gases (8,314 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>),  $B$  a constante que relaciona o calor de adsorção do processo e  $K_T$  uma constante de equilíbrio.

### 2.3.6 Termodinâmica da adsorção

A avaliação dos parâmetros termodinâmicos da adsorção permite estimar a natureza do processo, em relação à espontaneidade, interações exotérmicas ou endotérmicas e o nível de afinidade do soluto com o adsorvato. Além disso, esses parâmetros podem fornecer informações relativas à heterogeneidade da superfície do adsorvente e se o processo envolve adsorção física ou química.

Os parâmetros termodinâmicos (Energia de Gibbs, Entalpia e Entropias de adsorção) podem ser obtidos a partir das relações de equilíbrio entre o adsorvente e a solução, por meio das isotermas em várias temperaturas. A variação da energia de Gibbs durante a adsorção  $\Delta G_{ADS}$  pode ser estimada a partir da constante de equilíbrio do processo de adsorção ( $K_{EQ}$ ) mediante a eq. 2.36 de Van't Hoff (citado por BANAT; AL-ASHED; AL-ROUSAN, 2002).

$$\Delta G_{ADS} = -R \cdot T \cdot \ln K_{EQ} \quad 2.36$$

A constante de equilíbrio pode ser estimada a partir da relação entre os dados de concentração da solução de equilíbrio e a massa adsorvida na superfície. A estimativa do  $K_{EQ}$  pode ser obtida a partir da relação linearizada entre  $q_{EQ} / C_{EQ}$  e  $q_{EQ}$ . A partir do modelo linear obtido, a  $K_{EQ}$  é determinada pela

extrapolação quando o valor de  $q_{EQ}$  tende a ZERO (KHAN; SINGH, 1987). A partir das relações termodinâmicas pode-se escrever a dependência da Energia de Gibbs ( $\Delta G_{ADS}$ ) em função da variação da entropia ( $\Delta S_{ADS}$ ) e entalpia ( $\Delta H_{ADS}$ ) de adsorção, conforme equação 2.37:

$$\Delta G_{ADS} = \Delta H_{ADS} - T \cdot \Delta S_{ADS} \quad 2.37$$

Substituindo a equação 2.36 em 2.37, obtém-se a expressão que relaciona a constante de equilíbrio da adsorção com a variação da entalpia e a entropia, para distintas temperaturas (equação 2.38). A entalpia e entropia de adsorção são determinadas mediante regressão dos dados de  $\ln K_{EQ}$  e  $1/T$ .

$$\ln K_{EQ} = \frac{\Delta S_{ADS}}{R} - \frac{\Delta H_{ADS}}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad 2.38$$

Valores negativos de  $\Delta G_{ADS}$  indicam que o processo de adsorção é espontâneo e que o adsorvente tem afinidade pelo adsorvato. A  $\Delta H_{ADS}$  indica se o processo é exotérmico ou endotérmico, sendo que valores negativos de  $\Delta H_{ADS}$  caracterizam que o processo é de natureza exotérmica, ou seja, a taxa de adsorção diminui com o acréscimo da temperatura; enquanto que processo com  $\Delta H_{ADS}$  positivos indicam processos endotérmicos, nos quais, o aumento da temperatura favorece a fixação do adsorvato no adsorvente (MITTAL; KURUP; GUPTA *et al.*, 2005).

A partir dos valores de  $\Delta H_{ADS}$  pode-se avaliar as características da interação entre o adsorvato e adsorvente, isto é, se a interação entre eles é de ordem física ou química. A adsorção física é, usualmente, exotérmica e a energia liberada durante o processo é da ordem de -10 a -20 kJ mol<sup>-1</sup>. As moléculas possuem liberdade para movimentação, deslocando-se sobre a superfície do adsorvato, sem a restrição de um sítio específico. A adsorção química representa uma interação específica, na qual a energia liberada é superior aos processos físicos, com valores acima de 20 kJ mol<sup>-1</sup>. Nesta condição, ocorre a mudança da conformação do sítio ativo do adsorvente, ocasionando a redução do grau de liberdade das moléculas e a maior ordenação do sistema ( $\Delta S_{ADS} < 0$ ) (RUTHVEN, 1986; KHORMAEI *et al.*, 2007).



## 2.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A partir do apresentado ao longo deste capítulo, destaca-se que o Estado do Paraná representa um importante pólo agroindustrial para a produção de seda, com relevância internacional. Portanto, são necessários estudos para a melhoria da cadeia produtiva da seda, tanto no desenvolvimento de processos de produção e refino, quanto na recuperação de subprodutos. Assim como o desenvolvimento de produtos e tecnologias a partir dos subprodutos do casulo do bicho-da-seda.

Neste contexto, a sericina, proteína usualmente tratada como resíduo das etapas de cozimento e degomagem da seda, deve ser tratada como um subproduto de relevante valor agregado, com potenciais aplicações em fármacos, cosméticos e biomateriais. Estudos voltados para a remoção da sericina são fundamentais de forma a propiciar a sua obtenção com composição química e conformação molecular próxima a existente no casulo. Estudar o fracionamento da sericina, por meio de ultrafiltração, possibilita a obtenção de frações com distintas massas molares por processo físico comumente presente a nível industrial. Destina-se assim, as moléculas de alta massa molar para fins de produção de biomateriais e as de baixa massa molar como insumo potencial em cosméticos, fármacos e alimentos.

Quanto ao uso da sericina voltado à obtenção de biomateriais, estudos indicam o potencial uso da sericina para o desenvolvimento de biocompostos e hidrogéis. No entanto, há poucos estudos voltados à obtenção de biomateriais aplicáveis a processos industriais de separação, embora a sericina apresente características peculiares úteis para a confecção de materiais seletivos, desejáveis em processos de separação, tais como a adsorção.

Este trabalho teve como foco abordar aspectos inerentes à melhoria da cadeia produtiva da sericina, no tocante a avaliação de processos aplicáveis à etapa de degomagem, com o foco de obter maior percentual de remoção, preservando as características estruturais específicas da proteína. Além disso, o fracionamento da sericina por ultrafiltração para obtenção produtos com distintas frações molares; e finalmente, avaliar a capacidade de biossorção da sericina para fixação de compostos comuns em efluentes indústrias.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

Os casulos verdes foram doados por produtores da região noroeste do Estado do Paraná. Amostras de fio de seda beneficiado foram fornecidas pela Fiação BRATAC S/A de Londrina, Paraná.

Os processos de extração da sericina foram conduzidos com água deionizada e com soluções aquosas de Carbonato de Sódio anidro (99,0 %, Sigma Aldrich).

A quantificação da concentração de sericina em solução foi realizada por metodologia utilizando reativo *Bradford* (padrão espectrofométrico, Sigma-Aldrich), etanol anidro (99,5%, Sigma-Aldrich) e água destilada para diluição das amostras e curva padrão.

O procedimento de limpeza química dos módulos de ultrafiltração utilizou soluções aquosas de hidróxido de sódio (97%, Vetec) e de hipoclorito de sódio comercial.

Os testes de adsorção de cobre foram efetuadas a partir da diluição de sulfato de cobre penta hidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Vetec) em água destilada. A quantificação do íon cobre em solução foi obtida por espectrofotometria mediante a complexação do íon cobre com cuprizona (bis-cicloexanona - oxaldihidrazona) (98%, Across), etanol anidro (99,5%, Sigma-Aldrich), e tampão fosfato pH 8,00, elaborado a partir da dissolução de fosfato de potássio dibásico trihidratado ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 98%, Vetec) e fosfato de potássio monobásico anidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 98%, Vetec) em água destilada.

Os testes com corante sintético utilizaram o corante ácido Bordeaux S - amarantho, amostra comercial (Duas Rodas) diluída em água destilada.

## 3.2 METODOLOGIA

### 3.2.1 Extração da sericina

A extração da sericina foi inicialmente efetuada das amostras de casulo e fio de seda beneficiado (FIGURA 3.1). As amostras de casulo foram picadas em pequenos pedaços (cerca de 1,0 cm<sup>2</sup>) para facilitar a deposição das amostras nos frascos de erlenmeyer de 500 mL.

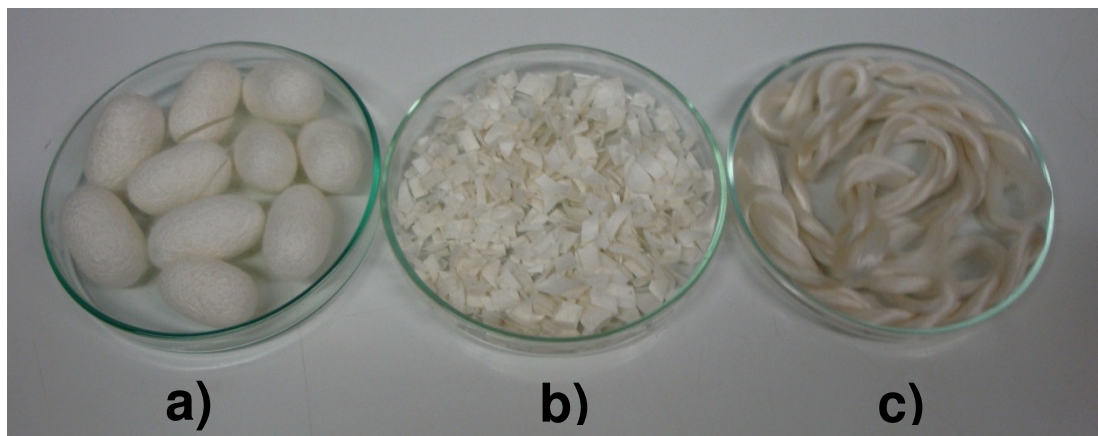


FIGURA 3.1 – AMOSTRAS DE CASULO INTEIRO (a), PICADO (b) E FIO DE SEDA (c)

As amostras avaliadas (casulo ou fio de seda beneficiado) foram imersas em 250 mL de solução extratora, em determinada concentração (% m/V - massa de amostra (g) por 100 mL de solução extratora) dentro de erlenmeyers de 500 mL, e transferidos para o sistema de aquecimento, conforme a temperatura e tempos predefinidos para o processo de extração.

Após o processo de extração, as amostras foram filtradas, sob vácuo, em filtro quantitativo de 14 µm de porosidade (Whatman, previamente seco em estufa a 50 °C e pesado). O material sólido (contendo a fibroína insolúvel e residual de sericina) foi lavado com água quente para recuperação da fibra insolúvel.

O material sólido foi submetido à secagem em estufa a 105 °C, durante 12 horas, e acondicionado em dessecadores por 1 hora para a estabilização da temperatura com o ambiente sem a absorção de umidade. Na sequência o

material sólido foi pesado e determinado o percentual de sericina removida e residuais, quantificado pela equação 3.1:

$$S.E.(%) = \left[ 1 - \frac{m_f}{m_i} \right] \cdot 100 \quad 3.1$$

Sendo:

*SE* - porcentagem de sericina extraída, definida como rendimento de extração ou a taxa de degomagem.

$m_i$  - massa de amostra antes da extração (g).

$m_f$  - massa de amostra após a extração (g).

A concentração de sericina presente em fase aquosa foi avaliada pela metodologia espectrofotométrica *Bradford* (BRADFORD, 1976). Este método utiliza o reativo *Bradford*, que consiste de uma solução aquosa ácida contendo o corante *Coomassie brilliant blue*, que reage com a proteína. A interação da proteína com o corante estabiliza a forma aniônica do corante, efetuando a mudança da coloração: da coloração castanha para tons de azul, variáveis de acordo com a concentração (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

#### 3.2.1.1 Caracterização das amostras de casulo e fio de seda beneficiado

As amostras de casulo e fio de seda beneficiado foram caracterizadas quanto ao teor de umidade (metodologia gravimétrica), cinzas e nitrogênio total, conforme metodologias oficiais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2004).

As amostras foram submetidas a processo de degomagem com o intuito de caracterizar a quantidade de sericina presente em cada amostra e o rendimento de extração mediante distintos procedimentos. As condições operacionais adotadas foram:

- Temperatura de extração: 80 °C e 120 °C
- Concentração de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (% m/V): 0 % e 0,5 %
- Concentração de amostra em solução aquosa: 1,0 % m/V.
- Tempo de extração na temperatura avaliada: 20 minutos

O volume de solução utilizado para cada teste foi de 250 mL, inseridos em um erlenmeyer de capacidade de 500 mL. As extrações na temperatura 120 °C foram conduzidas dentro de Autoclave (Autoclave vertical PHOENIX AV - 30), enquanto as extrações efetuadas a 80 °C foram conduzidas em banho de aquecimento (QUIMIS, modelo Q215M).

### 3.2.1.2 Efeito da temperatura, do tempo de extração e dos tipos de soluções

Amostras de casulo do bicho-da-seda foram submetidas à extração em água deionizada sem uso de aditivos, variando a concentração de casulo em solução e a temperatura de extração, de acordo com delineamento fatorial completo 3<sup>2</sup> proposto (TABELA 3.1).

Os testes de extração foram reproduzidos em triplicata, tendo um volume para cada ensaio de 250 mL. Foram avaliados o rendimento de extração e a distribuição da massa molar da sericina em solução.

TABELA 3.1 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO

Testes	Concentração (% m/V)	Temperatura (°C)
1	1,0	111
2	3,0	111
3	5,0	111
4	1,0	120
5	3,0	120
6	5,0	120
7	1,0	127
8	3,0	127
9	5,0	127

Em complemento ao estudo proposto no delineamento foi avaliado o rendimento de extração no período de inércia térmica da autoclave, desde a temperatura de 100 °C até o momento que atinge a temperatura desejada no processo (TABELA 3.1). Esta caracterização foi realizada devido à exposição

prolongada da solução ao gradiente crescente de temperatura na pressurização da autoclave.

A partir dos resultados observados do delineamento fatorial proposto, foi averiguado o efeito do tempo de extração a temperatura de 120 °C, fixando a concentração de casulo picado em 1,0 % (m/V). Os tempos de extração avaliados foram (minutos): 5, 10, 15, 20, 30 e 60.

### 3.2.1.3 Perfil de aminoácidos e distribuição de massa molar

A caracterização da distribuição de massa molar e a composição de aminoácidos foram efetuadas no Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), no laboratório de Química Fina.

A distribuição de massa molar foi efetuada em cromatógrafo Merck Hitachi LaChrom, composto de uma bomba quaternária L-7100, injetor automático L-7250, detector de Índice de Refração L-7490 e módulo de aquecimento de colunas L-7300. A coluna utilizada foi a Ultrahydrogel Linear (300 mm x 7,8 d.i.) Waters.

A metodologia adotada foi à mesma utilizada por TOMADON Jr. (2011) e TURBIANI (2011), tendo como fase móvel água ultra pura (Mili-Q) com vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 20 µL e temperatura de separação de 50 °C. As amostras foram filtradas em cartuchos de seringa MILEX (porosidade de 45 µm) e acondicionadas em *vials* para posterior análise. A curva padrão foi constituída de amostras de solução de pululana, nas massas molares (kDa) de 20, 50, 100, 200, 400 e 800.

A análise da composição de aminoácidos da sericina foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) mediante o método PICO TAG, o qual utiliza fenilisotiocianato como agente derivatizante dos aminoácidos. Foram utilizados padrões de aminoácidos Pierce, contendo 2,5 µmol mL<sup>-1</sup> de Amônia, L-Alanina, L-Arginina, L-Ácido Aspártico, L-Ácido Glutâmico, Glicina, L-Histidina, L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Metionina, L-Fenilalanina, L-Prolina, L-Serina, L-Treonina, L-Tirosina, L-Valina e 1,25 µmol mL<sup>-1</sup> de L-Cistina.

O processo de hidrólise das amostras foi realizado com vapores de ácido clorídrico  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  sob atmosfera de nitrogênio e, após a secagem, adicionou-se uma solução contendo etanol: trietilamina: água: fenilisotiocianato na proporção 7:1:1:1 (por volume).

A separação cromatográfica, CLAE, foi efetuada no mesmo equipamento utilizado para a determinação da distribuição de massa molar, com uso da coluna C-18, Nova-Pak Waters ( $3.9 \times 150 \text{ mm}$ ,  $4 \text{ }\mu\text{m}$  diâmetro de partículas). A fase móvel utilizada foi: Eluente A (água contendo tampão acetato para pH 6,4 e acetonitrila, na proporção de 96:4 % (v/v); Eluente B: acetonitrila e água 60:40 % (v/v).

O gradiente de eluição da fase móvel foi: 0 % a 46 % de B em 10 min ( $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ), 46 % a 100 % de B em 0,5 min ( $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ); 100 % de B por 1,5 min ( $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ); 100 % a 0 % de B em 0,5 min ( $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ ); 100 % de A por 8,5 min ( $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ ); 100 % de A em 0,5 min ( $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ).

O volume de injeção para análise foi de  $10 \text{ }\mu\text{L}$  e o comprimento de onda para detecção foi de 254 nm, com a separação cromatográfica ocorrendo sob temperatura de  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.2.1.4 Comportamento reológico

O comportamento reológico estacionário das soluções contendo sericina obtidas pelo processo de extração aquosa (soluções avaliadas nas concentrações obtidas a partir das extrações a 1, 3 e 5 % m/V, após 1 e 24 do processo de extração) foi determinado no Viscosímetro Brookfield (modelo DVII+Pro, acoplado ao software Rheocalc versão V3.1-1), utilizando o *spindle* SC4-18. As curvas de fluxo e curvas de viscosidade foram determinadas com variação da taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) entre 10 e  $200 \text{ s}^{-1}$ .

O comportamento reológico estacionário das soluções submetidas às taxas de cisalhamento foi estimado a partir do modelo Herschel-Bulkley descrito pela equação 3.2 (citado por IZIDORO *et al.*, 2011):

$$\tau = \tau_o + \mu \cdot \gamma^n \quad 3.2$$

Sendo:

$\tau$  - tensão de cisalhamento (Pa)

$\tau_o$  - tensão de cisalhamento inicial (Pa)

$\mu$  - viscosidade intrínseca (Pa s)

$\gamma$  - taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ )

$n$  – índice de comportamento viscoso.

A transição estrutural das soluções contendo sericina, obtidas no processo de extração a 120 °C em água nas proporções de 1, 3 e 5 % (m/V), foi avaliada conforme procedimento descrito por ZHU, ARAÍ e HIRABAYASHI (1995). Alíquotas das soluções recém extraídas foram transferidas para cubetas de vidro (com caminho óptico de 1,0 cm) e submetidas à leituras de transmitância ao longo do tempo, em espectrofotômetro (FEMTO – modelo 600 *plus*), em comprimento de onda de 400 nm.

Os géis formados pelas soluções obtidas nas extrações a 3 % e 5 % foram submetidos a análises reológicas em regime oscilatório, em reômetro Haake Rheostress 600 (Haake, Karlsruhe, Alemanha), acoplado a um sensor de geometria cone-placa, rotor C-60 / 2° Ti e abertura (gap) de 1,0mm, a 25 °C

Previamente às análises dos espectros mecânicos (módulos  $G'$  e  $G''$  em função da frequência) foi realizada uma varredura de tensão na faixa de 0,1 a 100 Pa a frequência de 1,0 Hz com o objetivo de determinar a região viscoelástica das soluções contendo sericina. Os ensaios de varredura de frequência foram executados na faixa de 0,1 a 10 Hz a temperatura de 25 °C, a tensão de 1,0 Pa.

Foi avaliada a estabilidade dos géis em função da temperatura, variando de 20 a 90 °C com taxa de aquecimento de 3,0 °C  $min^{-1}$ , à frequência de 1,0 Hz. Para o estudo da varredura de tempo, utilizou-se o intervalo de 30 minutos à frequência de 1,0 Hz. Para evitar o ressecamento da solução de sericina durante a realização da análise foi aplicado óleo de silicone na superfície da amostra exposta ao meio externo.



### 3.2.2 Ultrafiltração

Soluções aquosas de sericina, obtidas pelos processos de extração em meio aquoso a 120 °C, foram processadas em uma bancada de Ultrafiltração (PAM Membranas, com membranas de polissulfona em fibra oca com retenção nominal, *cut-off*, de 50 kDa, FIGURA 3.2), com o intuito de obter frações de sericina com alta massa molar.



FIGURA 3.2 - UNIDADE DE ULTRAFILTRAÇÃO

Os testes de ultrafiltração foram realizados com volume de um litro por batelada e as concentrações de sericina foram padronizadas mediante diluição (com água deionizada) das soluções obtidas no processo de extração aquoso a 120 °C até o valor de concentração inicial específico, descritos nos tópicos a seguir.

O estudo do processo de fracionamento das soluções de sericina com a unidade experimental foi realizado avaliando os seguintes modos de operação (DAVIS, 1992; HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006):

- Sistema fechado.
- Modo de operação em Batelada.
- Modo de operação em Diafiltração.
- Modo de operação em Batelada associada à retrolavagem.

As membranas foram caracterizadas conforme procedimento operacional padrão do equipamento, a partir de um volume de um litro de água

microfiltrada. Aplicou-se uma pressão mínima que possibilitou a água permear a membrana e registrou-se o valor de pressão transmembrana. Após a compactação da membrana, registraram-se os valores de fluxo de permeado, para determinados valores de pressão transmembrana pré-estabelecidos.

Como a única resistência presente é a da membrana, a relação entre o fluxo de permeado e a pressão transmembrana aplicada é linear, seguindo a equação 3.3 (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

$$J_p = P_H \cdot \Delta P \quad 3.3$$

Sendo:

$J_p$  - fluxo de permeado ( $\text{kg m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ).

$P_H$  - Permeabilidade Hidráulica ( $\text{kg m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ).

$\Delta P$  - pressão transmembrana aplicada (MPa).

A determinação do fluxo de permeado foi efetuada por gravimetria, com a coleta do permeado em reservatório acomodado sobre uma balança de precisão.

O processo de limpeza químico adotado para a recuperação do fluxo de permeado consistiu na imersão da membrana em solução aquosa de NaOH 1,0 % m/V por 24 horas, seguida pela imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódios 500 ppm por 1 hora. Após o tratamento químico, a membrana foi submetida a sucessivos enxágues e submetida ao teste de permeabilidade hidráulica.

#### 3.2.2.1 Estudo em sistema fechado

O estudo do processamento da solução de sericina em sistema fechado (reciclo total) consiste em recircular as correntes de permeado e de retentado junto ao sistema, com o intuito de manter o volume de batelada constante (FIGURA 3.3). A operação em sistema fechado permite a avaliação dos efeitos das variáveis de operação sobre o comportamento do fluxo de permeado.

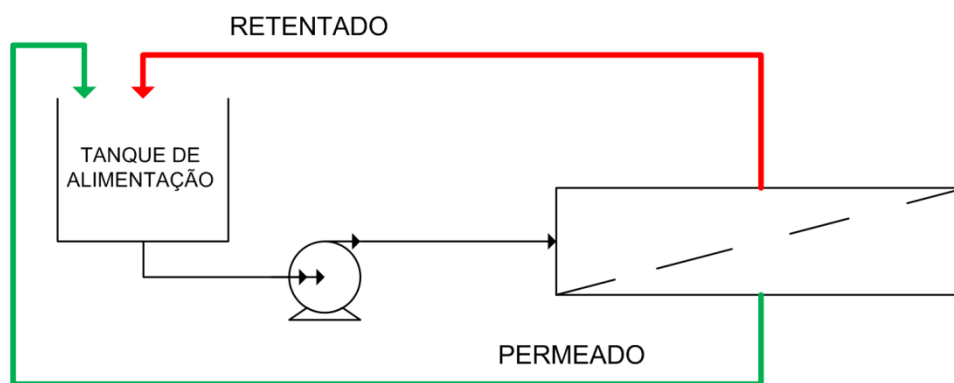


FIGURA 3.3 - OPERAÇÃO EM SISTEMA FECHADO

Para tanto, foram efetuados testes seguindo delineamento fatorial  $2^2$ , conforme as TABELAS 3.2 e 3.3, sendo a combinação:

a) Vazão de alimentação ( $1,0$  e  $2,0 \text{ L min}^{-1}$ ) e concentração de sericina na solução alimentada ( $0,1$  e  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ), mantendo a área superficial em  $360 \text{ cm}^2$  (TABELA 3.2).

b) Área superficial ( $170$  e  $560 \text{ cm}^2$ ) e concentração da sericina na solução alimentada ( $0,1$  e  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ), mantendo a vazão de alimentação em  $1,0 \text{ L min}^{-1}$  (TABELA 3.3).

TABELA 3.2 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DA VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO

Testes	Concentração ( $\text{g L}^{-1}$ )	Vazão de alimentação ( $\text{L min}^{-1}$ )
1	0,1	1,0
2	1,0	1,0
3	0,1	2,0
4	1,0	2,0

1 - Área superficial mantida a  $360 \text{ cm}^2$

TABELA 3.3 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DA ÁREA SUPERFICIAL

Testes	Concentração ( $\text{g L}^{-1}$ )	Área Superficial ( $\text{cm}^2$ )
1	0,1	170
2	1,0	170
3	0,1	560
4	1,0	560

1 - Vazão de alimentação de  $1,0 \text{ L min}^{-1}$ .

Cada condição experimental, descrita nas TABELAS 3.2 e 3.3, foi reproduzida em triplicata. Para cada condição acima citada, o processo foi avaliado nos valores de pressão transmembrana:  $0,03$ ;  $0,05$ ;  $0,07$ ;  $0,09$ ;  $0,12$  e  $0,15 \text{ MPa}$ . O fluxo de permeado médio,  $J_p$ , para cada pressão transmembrana

na região de fluxo pseudo-estacionário, foi estimado durante um período de 10 minutos, mediante equação 3.4 (citado por SILVA; SCHEER, 2011).

$$J_p = \frac{\Delta m_p}{S \cdot \Delta t} \quad 3.4$$

Sendo:

$\Delta m_p$  - massa de permeado (kg) coletada

$S$  - área superficial da membrana (m<sup>2</sup>).

$\Delta t$  - intervalo de tempo avaliado (h)

### 3.2.2.2 Operação em modo de batelada, diafiltração e batelada associada à retrolavagem

A partir do estudo efetuado sobre os efeitos dos parâmetros operacionais sobre o fluxo de permeado, adotou-se a pressão transmembrana de 0,05 MPa; vazão de alimentação de 1,0 L min<sup>-1</sup> e concentração inicial de sericina em 3,0 g L<sup>-1</sup>. A membrana adotada para a sequência dos estudos foi o módulo com área superficial de 560 cm<sup>2</sup>. O volume de batelada adotado foi de um litro para cada modalidade avaliada.

A operação em regime de batelada consistiu na remoção contínua do permeado do sistema, diminuindo o volume de solução inicial (FIGURA 3.4 - a). Foram avaliados os seguintes parâmetros (citado por CAPAR, 2012; SILVA; HAMERSKI; SCHEER, 2012):

- fator de concentração ( $FC$ ): expressa o grau de concentração da solução alimentada, equação 3.5;
- coeficiente de rejeição ( $CR$ ): indica a relação de retenção do soluto na superfície da membrana e o soluto que permeia a mesma, equação 3.6;
- coeficiente de transmissão ou transmitância ( $Tr$ ): relaciona a concentração que permeia a membrana pela concentração que não permeia a membrana, equação 3.7.

$$FC = \frac{m_I}{m_I - m_P} \quad 3.5$$

$$CR(\%) = \left(1 - \frac{C_P}{C_B}\right) \cdot 100 \quad 3.6$$

$$Tr(\%) = \left(\frac{C_P}{C_R}\right) \cdot 100 \quad 3.7$$

Sendo:

$m_I$  - massa de solução alimentada no início do processo (kg).

$m_P$  - massa de solução acumulada na corrente de permeado durante um determinado período de tempo (kg).

$C_P$  - concentração de sericina na corrente de permeado (g L<sup>-1</sup>)

$C_R$  - concentração de sericina na corrente de retentado (g L<sup>-1</sup>).

$C_B$  - concentração de sericina na solução alimentada (g L<sup>-1</sup>).

O tempo de operação para todo o processo foi fixado em 1 hora de operação, independente das condições operacionais adotadas, sendo avaliado o fluxo de permeado, fator de concentração e coeficiente de rejeição.

A operação em diafiltração (FIGURA 3.4 - b) consiste na adição de solvente, neste caso água, na vazão correspondente a de saída do permeado. O objetivo nesta modalidade é manter o volume de alimentação constante, garantindo uma estabilização do fator de concentração, igual ao em regime de reciclo total.

A modalidade de operação descrita como regime de batelada associada a ciclos de retrolavagem (*backflushing*) consistiu na operação em batelada com interrupções cíclicas no processo (FIGURA 3.4 - c), promovendo a reversão temporária do sentido do fluxo de permeado com a alimentação de água microfiltrada pela corrente de permeado e a retirada pelo retentado (KIM *et al.*, 2007).

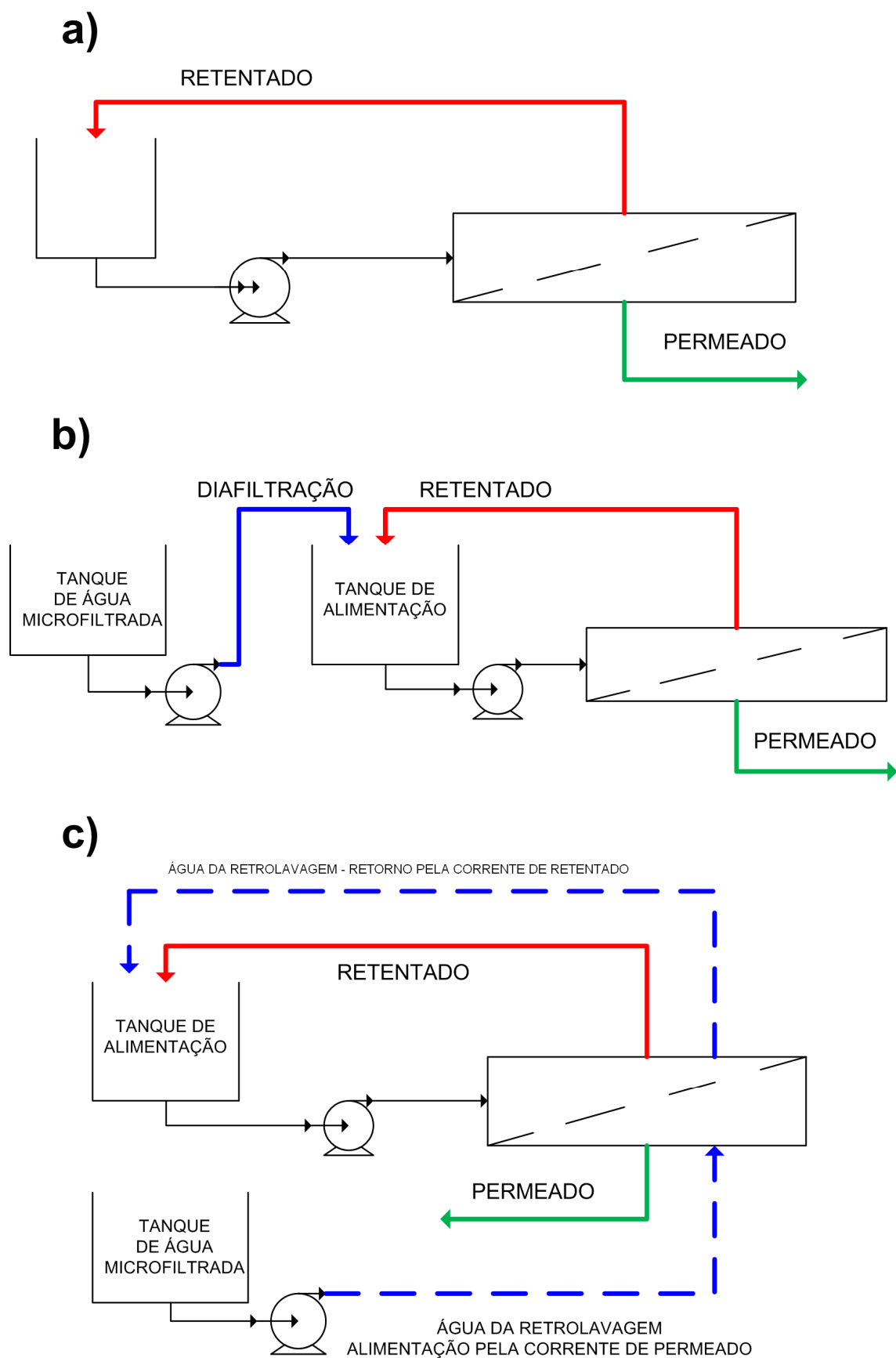


FIGURA 3.4 - MODOS DE OPERAÇÃO AVALIADOS NA ULTRAFILTRAÇÃO.  
a) BATELADA; b) DIAFILTRAÇÃO; c) BATELADA ASSOCIADA À RETROLAVAGEM.

Durante o processo de operação em batelada associada à retrolavagem, realizaram-se três ciclos completos, sendo utilizados 45 minutos no processamento da solução de sericina e 12 minutos em retrolavagem. O procedimento operacional adotado para a operação em batelada associada à retrolavagem (*backflushing*) foi desenvolvido da seguinte maneira:

1. Processo da solução por 15 minutos
2. Lavagem da carcaça por 30 segundos com água microfiltrada
3. Retrolavagem com água microfiltrada a pressão transmembrana inicial de 0,10 MPa, no intervalo de tempo de 4 minutos.
4. Retomada do processo a pressão transmembrana de 0,05 MPa, por 15 minutos.

As definições de valores de pressão transmembrana, área superficial e vazão de alimentação para os modos de operação descritos foram determinadas a partir dos resultados obtidos no estudo em sistema fechado.

O perfil de fluxo de permeado foi mensurado por gravimetria, com amostragem inicial a cada 10 segundos, nos primeiros 30 segundos de operação, seguida de amostragens em intervalos de um minuto na sequência do processo, durante uma hora de operação.

A determinação do fluxo de permeado, neste caso, foi avaliada conforme abordagem adotada por SILVA, HAMERSKI e SCHEER (2012), equação 3.8.

$$J_p(t) = \frac{1}{S} \cdot \frac{dm_p(t)}{dt} \quad 3.8$$

Sendo  $dm_p/dt$  a variação diferencial da massa de permeado no intervalo de tempo estimado  $t_I$ . As estimativas dos valores de variação diferencial da vazão mássica foram calculadas mediante método das diferenças finitas, conforme equações 3.9 e 3.10 (PINTO; LAGE, 2001)

$$\frac{dm_p(t_I)}{dt} = \frac{m_p(t_{I+1}) - m_p(t_I)}{\Delta t} \quad 3.9$$

$$\frac{dm_p(t_I)}{dt} = \frac{m_p(t_I) - m_p(t_{I-1})}{\Delta t} \quad 3.10$$

### 3.2.2.3 Avaliação do perfil de fluxo de permeado

O estudo do comportamento do fluxo de permeado foi realizado para o processo em batelada, processando as seguintes soluções com sericina:

- Concentração de 3,0 g L<sup>-1</sup>, extração aquosa a 120 °C
- Concentração de 1,0 g L<sup>-1</sup>, extração aquosa a 120 °C

A partir dos valores de fluxo de permeado da operação em batelada, foram estimadas as resistências presentes no processo de ultrafiltração mediante o modelo das resistências em série (SILVA; SCHEER, 2011). A equação de fluxo em função da permeabilidade hidráulica  $P_H$  pode ser reescrita na forma de resistência, conforme a equação 3.11:

$$J = P_H \cdot \Delta P = \frac{1}{\mu \cdot R_T} \cdot \Delta P \quad 3.11$$

Sendo:

$\mu$  – viscosidade da solução que permeia a membrana (Pa · s);

$R_T$  – representa a resistência total ao processo de filtração (m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>).

De acordo com o modelo das resistências em série, a resistência total caracteriza-se pela somatória dos efeitos resistivos que ocorrem durante a ultrafiltração. A aproximação da resistência total adotada para quantificar a resistências presentes segue descrita pela equação 3.12.

$$R_T = R_M + R_F + R_P \quad 3.12$$

Sendo:

$R_M$  – resistência específica da membrana (m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>)

$R_F$  – resistência devido à formação do *fouling*, de caráter irreversível (m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>)

$R_P$  – resistência devido à camada de polarização, considerando o efeito da polarização por concentração e a formação da torta na superfície da membrana (m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>).



A resistência específica da membrana,  $R_M$ , é determinada com o valor de fluxo com água microfiltrada para a membrana limpa,  $J_W$ , conforme a equação 3.13 e a viscosidade da água,  $\mu_W$ . Neste caso, as resistências por polarização,  $R_P$ , e por *fouling*,  $R_F$ , são nulas.

$$R_M = \frac{\Delta P}{\mu_W \cdot J_W} \quad 3.13$$

O valor de  $R_F$  é obtido com o cálculo da resistência total a partir da medida de fluxo com água microfiltrada após a operação com a solução de sericina,  $J'_W$ , ou seja, com ela obstruída; e com o valor da viscosidade da água. Neste caso o valor da resistência pela polarização é nulo, já que apenas água deionizada circula no sistema. A resistência devido ao *fouling* pode ser descrita pelo modelo da equação 3.14:

$$R_F = \frac{\Delta P}{\mu_W \cdot J'_W} - R_M \quad 3.14$$

O valor de  $R_P$  é estimado a partir dos valores das resistências conhecidas, conforme a equação 3.15, sendo a resistência total,  $R_T$ , obtida pelo valor de fluxo estacionário com a solução de sericina.

$$R_P = R_T - R_M - R_F \quad 3.15$$

A descrição quantitativa o perfil de fluxo de permeado para as soluções tratadas em batelada com concentrações de 1,0 g L<sup>-1</sup> e 3 g L<sup>-1</sup> obtidas das soluções extraídas com água a 120 °C foram efetuadas pelos modelos do bloqueio de poros, descrito por Hermia (1982) e adaptado por Field et al. (1995). Os modelos de bloqueio de poros foram obtidos a partir da integração da equação 3.16, para cada índice de bloqueio de poros  $n$ .

$$-\frac{dJ}{dt} \cdot (J^{n-2}) = K_n \cdot (J - J^*) \quad 3.16$$

Os modelos específicos de bloqueio de poros integrados da equação 3.16 seguem listados na TABELA 3.4 para cada índice. Os conjuntos de dados de fluxo de permeado e tempo foram submetidos à regressão para cada equação algébrica obtida da integração da equação 3.16. O valor de  $J_{LIM}$  é o fluxo medido no último minuto de operação, que se aproxima ao fluxo da região estacionária (BARROS *et al.*, 2003).

TABELA 3.4 - MODELOS ALGÉBRICOS PARA OS MECANISMOS E BLOQUEIO DE POROS.

MODELO DE BLOQUEIO DE POROS	EQUAÇÃO	ÍNDICE $n$
Bloqueio Superficial dos Poros	$J(t) = J_{LIM} + (J_o - J_{LIM}) \cdot e^{-K_{2,0} \cdot t}$	2,0
Bloqueio Parcial dos Poros	$J(t) = \frac{J_o \cdot J_{LIM} \cdot \exp(K_{1,0} \cdot J_{LIM} \cdot t)}{J_o \cdot [\exp(K_{1,0} \cdot J_{LIM} \cdot t) - 1] + J_{LIM}}$	1,0
Bloqueio Interno dos Poros	$J(t) = \frac{J_o}{[1 + \sqrt{J_o \cdot K_{1,5} \cdot t}]^2}$	1,5
Formação da Torta	$K_0 \cdot t = \frac{1}{J_{LIM}^2} \cdot \left[ \ln \left( \frac{J(t)}{J_o} \cdot \frac{J_o - J_{LIM}}{J(t) - J_{LIM}} \right) - J_{LIM} \cdot \left( \frac{1}{J(t)} - \frac{1}{J_o} \right) \right]$	0

#### 3.2.2.4 Estimativa de perda de massa durante o fracionamento

Para os ensaios de ultrafiltração com as soluções com concentrações de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ g L}^{-1}$  (obtidas mediante extração aquosa a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  sem ajuste de pH) foi estimada a perda de massa devido ao acúmulo de soluto na membrana, mediante balanço de massa (DAVIS, 1992; SILVA, HAMERSKI; SCHEER, 2012).

As equações de balanço de massa para o solvente e para a sericina desenvolvidas para o volume de controle limitado à membrana (FIGURA 3.4-a) e ao tanque de alimentação (FIGURA 3.4-b) resultam nas equações 3.17, 3.18, 3.19 e 3.20, respectivamente:

$$Q_F = Q_P + Q_R \quad 3.17$$

$$\frac{dMS_{AC}(t)}{dt} = Q_F \cdot C_F - Q_P \cdot C_P - Q_R \cdot C_R \quad 3.18$$

$$\frac{dV}{dt} = Q_R - Q_F \quad 3.19$$

$$\frac{dV \cdot C_F}{dt} = Q_R \cdot C_R - Q_F \cdot C_F \quad 3.20$$

Onde:

$C_F$  – concentração de sericina na corrente de alimentação ( $\text{g L}^{-1}$ ).

$C_P$  – concentração de sericina na corrente de permeado ( $\text{g L}^{-1}$ ).

$C_R$  – concentração de sericina na corrente de retentado ( $\text{g L}^{-1}$ ).

$MS_{AC}$  – massa de sericina acumulada na superfície da membrana (g).

$Q_F$  – vazão volumétrica da solução da corrente de alimentação ( $\text{L h}^{-1}$ ).

$Q_P$  – vazão volumétrica da solução da corrente de permeado ( $\text{L h}^{-1}$ ).

$Q_R$  – vazão volumétrica da solução da corrente de retentado ( $\text{L h}^{-1}$ ).

$V$  – volume da solução contida no tanque de alimentação (L).

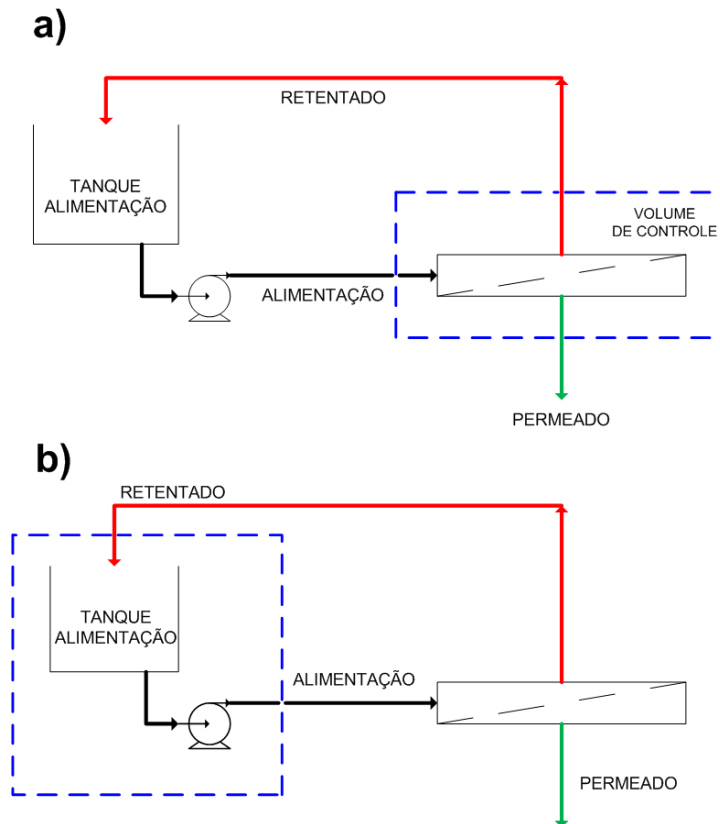


FIGURA 3.4 - VOLUMES DE CONTROLE PARA O BALANÇO DE MASSA.  
a) – UNIDADE DA MEMBRANA, b) – TANQUE DE ALIMENTAÇÃO

Substituindo a equação 3.17 em 3.18, obtém-se a função que relaciona a variação da massa acumulada na superfície da membrana em função do tempo, as concentrações mássicas nas correntes envolvidas e as suas respectivas vazões mássicas (equação 3.21).

$$\frac{dMS_{AC}(t)}{dt} = Q_F \cdot [C_F - C_R] - Q_P \cdot [C_R - C_P] \quad 3.21$$

As seguintes hipóteses foram adotadas:

- Mistura perfeita no tanque de alimentação, entre a corrente de entrada (retentado) e a solução interna ao tanque; e a concentração de saída (corrente de alimentação) igual ao do interior do reservatório.
- Volume de solução presente nas tubulações (volume morto) é desprezível em comparação com o volume no tanque de alimentação.
- Concentração na corrente de permeado é aproximadamente constante ao longo do tempo.
- Concentração de sericina na corrente de retentado em função da vazão de permeado (modelo estatístico obtido a partir de dados experimentais).

A partir da definição de fluxo de permeado (equação 3.8), foi obtida a função da vazão volumétrica da corrente de permeado em função da área superficial  $S$  e da densidade do permeado  $\rho_P$  (equação 3.22). Inserindo as equações 3.17 e 3.15 na equação 3.16, obtém-se a função de variação do volume no tanque de alimentação em função do fluxo de permeado mássico vazão de permeado (equação 3.23).

$$Q_P(t) = \frac{1}{\rho_P} \cdot \frac{dm_P(t)}{dt} = \frac{J_P(t)}{\rho_P} \cdot S \quad 3.22$$

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{J_P(t)}{\rho_P} \cdot S \quad 3.23$$

A partir da propriedade de produto em derivadas, pode-se reescrever a equação 3.20 na forma (equação 3.24):

$$C_F \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dC_F}{dt} = Q_R \cdot C_R - Q_F \cdot C_F \quad 3.24$$

Inserindo a equação 3.23 na equação 3.24, obtém-se a função que descreve a variação da concentração no tanque de alimentação, e consequentemente, na entrada da membrana (equação 3.25):

$$\frac{dC_F}{dt} = \frac{[C_R - C_F] \cdot [Q_F - Q_P]}{V} \quad 3.25$$

A variação da massa de sericina acumulada na superfície da membrana ao longo do tempo é obtida a partir da resolução numérica do sistema de equações diferenciais ordinárias 3.21, 3.23 e 3.25, tendo como condições iniciais (equações 3.26 a 3.28):

$$t = 0 \quad V(0) = V_0 \quad 3.26$$

$$t = 0 \quad C_F(0) = C_0 \quad 3.27$$

$$t = 0 \quad MS_{AC}(0) = 0 \quad 3.28$$

Onde  $V_0$  corresponde ao volume inicial do processo de batelada. O sistema de equações diferenciais ordinárias foi resolvido por método numérico de Euler Explícito, com passo de 0,1 min, em rotina computacional desenvolvida em linguagem Visual *Compaq* Fortran 6.6.

Amostras das correntes de permeado, alimentação e retentado foram recolhidas em intervalos de tempo específicos, e quantificadas a concentração mediante metodologia *Bradford* (item 3.2.1). A vazão volumétrica adotada foi de 1,0 L min<sup>-1</sup>, conforme avaliação desenvolvida no estudo em regime fechado.

O montante de sericina removido no processo devido à corrente de permeado ( $MS_P$ ) foi estimado conforme a equação 3.29:

$$MS_P(t) = \rho_p \cdot \int_0^t S \cdot C_p \cdot J_p(t) \cdot dt \quad 3.29$$

O montante de sericina retido na solução que não permeou a membrana ( $MS_R$ ) foi determinado a partir do balanço de massa global para um volume de controle de todo o sistema de operação em batelada conforme a equação 3.30:

$$MS_R(t) = MS_P(t) + MS_{AC}(t) \quad 3.30$$

### 3.2.3 Precipitação por descongelamento

Conforme citado por TOMADON Jr. (2011), foi realizada a precipitação da sericina em meio aquoso mediante processo físico de congelamento seguido do descongelamento à temperatura ambiente. O objetivo é promover a desnaturação da sericina devido à retirada de água que solvata a proteína pela formação dos cristais de gelo. A fase gel precipitada do meio aquoso corresponde à fração de sericina desnaturada.

O procedimento consistiu em acondicionar as soluções contendo sericina obtidas durante o processo de extração em embalagens de polietileno e armazená-las em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para o completo congelamento. Após o congelamento, as soluções congeladas foram submetidas a um processo de descongelamento, com a imersão dos recipientes em banho de aquecimento (QUIMIS, modelo Q215M) com a temperatura controlada. As temperaturas de descongelamento adotadas foram de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A fase aquosa obtida do descongelamento que contém fração de sericina solubilizada foi submetida a avaliação da distribuição de massa molar, adotando metodologia descrita no item 3.2.1.3, de forma a avaliar se os processos de congelamento e descongelamento ocasionaram a desnaturação apenas das frações protéicas de alta massa molar.

### 3.2.4 Testes de adsorção em batelada

A partir da sericina obtida via extração em meio aquoso, foi desenvolvido o procedimento de preparo da sericina para sua aplicação em ensaios de biossorção. Para avaliar o potencial de biossorção da sericina foram efetuados ensaios cinéticos e termodinâmicos para os sistemas:

- Solução aquosa contendo corante azo sintético Bordeaux S, amostra comercial (Duas Rodas) solubilizada em água destilada.
- Solução aquosa contendo íons de cobre mediante solubilização do sal sulfato de cobre penta hidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) em água destilada.

A sericina, para o processo de adsorção, foi obtida mediante o processo de descrito no diagrama de blocos (FIGURA 3.5), em procedimento adaptado de CHEN *et al.* (2012).

1. Degomagem: processo de extração da sericina: concentração de casulo de 5 % m/V, temperatura de extração 120 °C, tempo de extração de 20 minutos.

2. Congelamento: disposição da solução de sericina em embalagem polietileno, submetida a congelamento a -20 °C.

3. Descongelamento: temperatura ambiente, na qual ocorre a precipitação da sericina da fase aquosa.

4. Filtração: separar o filtrado, sericina em gel precipitado.

5. Re-congelamento: em freezer horizontal a -20 °C, de forma a promover o congelamento da sericina precipitada, para posterior liofilização.

7. Liofilização: secagem a frio da sericina congelada (liofilizador LIOBRAS, LIOTOP modelo L101).

8. Moagem: material seco foi submetido à moagem por meio do moedor (MARCONI, modelo MA 630/01) por 5 minutos, de forma a obter a sericina em pó insolúvel em água nas temperaturas de operação de adsorção.



FIGURA 3.5 - PROCEDIMENTO DE OBTENÇÃO DA SERICINA EM PÓ PARA ADSORÇÃO.

Os testes de adsorção em batelada foram realizados em incubadoras de controle de temperatura e agitação (TECNAL, modelo TE-412). A quantificação da massa de soluto adsorvida foi determinada por balanço de massa, seguindo a equação 3.31:

$$q(t) = [C_o - C(t)] \cdot \frac{V}{m} \quad 3.31$$

Sendo:

$q(t)$  - a massa de adsorvato retida no biossorvente no tempo ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

$C_o$  - concentração inicial de soluto na solução ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

$C(t)$  - concentração de soluto na solução no de tempo ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

$V$  - volume de solução a ser tratada na batelada (L).

$m$  - massa de adsorvente utilizada na batelada (g).

#### 3.2.4.1 Caracterização dos biossorventes

A sericina em pó obtida pelo processo de desnaturação a frio e liofilização foi caracterizada mediante as análises de:

- Porosidade e de área superficial (BET),
- Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR),
- Difração de raio-X (DRX)
- Microscopia eletrônica de varredura (MEV)
- Potencial isoiónico

As medidas de difração de raios-X das amostras de sericina foram obtidas em um difratômetro Panalytical, Empyrean, empregando como ânodo de radiação  $\text{Cu-K}\alpha$  ( $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$ ), corrente de 30 mA e tensão de 40 kV. Os dados foram coletados na posição de  $2\theta$ , em uma varredura de 3 a  $70^\circ$ , ao passo de  $0,02^\circ$  e tempo de 10 s. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Minerais e de Rocha (LAMIR) da Universidade Federal do Paraná (UFPR).



Os espectros de transmitância na região do infravermelho (4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) com transformada de Fourier (FTIR), das amostras na forma de pastilhas, foram obtidos em um instrumento BIO-RAD, Excalibur Series (FTS 3500 GX), com resolução de 4,0  $\text{cm}^{-1}$ , e 32 varreduras para cada espectro. Esta análise foi realizada no Laboratório de Espectrofotometria no Infravermelho do Departamento de Química da UFPR.

As amostras de sericina em pó (1,5 mg) foram homogeneizadas em almofariz e pistilo de ágata com 150 mg de brometo de potássio (KBr) grau espectroscópico (Vetec) previamente seco a 105 °C. A mistura foi submetida à compressão de 6,0 ton  $\text{min}^{-1}$  em prensa hidráulica Perkin-Elmer modelo 4037, para a obtenção de pastilhas finas e translúcidas.

As imagens da morfologia superficial da sericina em pó e dos fios de fibroína foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), JEOL JSM-6360. As amostras foram fixadas em suportes de cobre com fita adesiva dupla face de carbono e recobertas com uma camada de carbono. A metalização e a análise de MEV foram realizadas no Centro Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

As análises de área superficial específica BET (BRUNAUER *et al.*, 1938), o volume total dos poros e o diâmetro médio dos poros foram realizadas no Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Utilizou-se o método *t-plot* para determinar o volume dos microporos e o método BJH (BARRET; JOYNER; HALENDA, 1951) para calcular a distribuição do tamanho dos poros (mesoporos). As amostras de sericina em pó e fios de fibroína foram secas à temperatura de 105 °C e submetidas à adsorção de nitrogênio a 77,4 K com o equipamento Autosorb, series da Quantachrome. Os dados da adsorção e dessorção de nitrogênio foram analisados com o auxílio do programa Autosorb, Versão 1.19 da Quantachrome.

A estimativa da carga potencial líquida da superfície da proteína foi determinada de acordo com o método do potencial iso-iônico (SALIS *et al.*, 2008). O ponto iso-iônico é definido quando a superfície da proteína apresenta fração equivalente de cargas positivas e negativas e não há espécies iônicas absorvidas. O ponto iso-iônico coincide com o valor do ponto isoelétrico para soluções onde não há presença de eletrólitos provenientes do meio.

A metodologia adotada consiste em processo de titulação potenciométrica de solução aquosa contendo sericina, mediante titulador automático (bureta digital Classe A, Titrette BRAND) e pHmetro digital (modelo B-474 da Micronal) calibrado com tampões pH 4,0 e pH 7,0. Amostras contendo sericina e o branco (água ultra pura) foram tituladas paralelamente até pH 2,0 com solução de HCl padronizada 0,1 M.

As amostras acidificadas a pH 2 foram tituladas com NaOH padronizado a 0,1 M, sendo registrados os valores de pH a cada adição de base. A titulação foi conduzida até pH 11,0. As estimativas dos valores de potencial isoônico foram efetuadas pela equação 3.32.

$$Zp = \frac{(V_{HCl}^{SER} - V_{HCl}^{AGUA}) \cdot [HCl] - (V_{NaOH}^{SER} - V_{NaOH}^{AGUA}) \cdot [NaOH]}{m_{SERICINA}} \quad 3.32$$

Sendo:

-  $V_{HCl}^{SER}$  e  $V_{HCl}^{AGUA}$  os volumes de HCL necessários para ajustar a pH 2,0 das soluções contendo sericina e o branco, respectivamente.

-  $V_{NaOH}^{SER}$  e  $V_{NaOH}^{AGUA}$  os volumes de NaOH necessários para ajustar a pH das soluções contendo sericina e o branco, respectivamente, a um determinado valor.

-  $m_{SERICINA}$  é a massa de sericina presente na solução aquosa utilizada no ensaio (g).

#### 3.2.4.2 Efeito do pH nos processos de bioadsorção do corante Bordeaux S e do Cobre

Foi avaliada a capacidade de bioadsorção da sericina para o corante sintético Bordeaux S e íons cobre variando o pH da solução, mantendo fixados os valores de concentração inicial do soluto, a massa de bioadsorvente, o volume de solução e a temperatura.

As condições experimentais adotadas para averiguar o efeito do pH na bioadsorção do corante Bordeaux S foram:

- Concentração do corante Bordeaux S: 100 mg/L
- pH: 1,75 – 2,0 – 2,5 – 3,0 – 3,5 – 4,0 – 6,0 – 8,0 – 10,0.

Com o intuito de garantir a presença somente de íons de cobre em solução para os estudos posteriores de bioadsorção, fez-se uma avaliação da curva de especiação do logaritmo da concentração dos íons a base de Cobre, em função do pH, utilizando o software livre HYDRA de geração de diagramas de especiação químicos. As condições experimentais adotadas para averiguar o efeito do pH na bioadsorção dos íons cobre foram:

- Concentração dos íons cobre: 25,0 mg/L
- pH: 2,0 – 3,0 – 4,0 – 4,82 – 5,0.

Os valores de pH adotados para o estudo do processo de bioadsorção do cobre foram fixados conforme o intervalo de especiação do cobre, no qual, a espécie catiônica  $\text{Cu}^{2+}$  é majoritária.

#### 3.2.4.3 Cinéticas e Isotermas de adsorção do corante Bordeaux S

O procedimento experimental para a determinação das cinéticas de bioadsorção do corante Bordeaux S foi adaptado de SILVA *et al.* (2011) e ZUIM *et al.* (2011). Adicionou-se 30 mL de solução aquosa do corante Bordeaux S, com o pH ajustado de acordo com o resultado obtido no item 3.2.4.1, em erlenmeyers de 125 mL contendo 30 mg da sericina em pó. Os frascos foram vedados com filme de PVC.

A cada tempo específico retirou-se o respectivo erlenmeyer e filtrou-se a solução em papel filtro (qualitativo - Whatman), reservando a solução para quantificação. Os estudos cinéticos foram executados seguindo as condições abaixo descritas:

- Temperaturas ( $^{\circ}\text{C}$ ): 20 – 30 – 40.
- Concentração de Bordeaux S: 300 mg  $\text{L}^{-1}$ .
- Tempos avaliados (minutos): 2, 5, 10, 30, 60, 120, 180.

De forma comparativa, efetuou-se a adsorção da solução contendo o corante Bordeaux S na concentração de 300 mg  $\text{L}^{-1}$  com fibroína seca obtida durante do processo de extração aquosa de sericina a 120  $^{\circ}\text{C}$ . Os ensaios

foram conduzidos durante 180 minutos nas temperaturas de 20, 30 e 40 °C; volume de batelada e 30 mL e massa de fibroína de 30 mg.

As isothermas de bioadsorção foram obtidas a partir da adição de 30 mL de solução contendo concentrações variadas do corante Bordeaux S, mantendo o pH pré-estabelecido, em erlenmeyers de 125 mL contendo 30 mg da sericina e vedados com filme de PVC. As amostras foram mantidas por um período de 24 horas e depois retiradas, filtradas em papel filtro (qualitativo - Whatman) e as soluções foram reservadas para quantificação. As condições experimentais adotadas para a determinação das isothermas foram:

- Temperaturas avaliadas (°C): 20 – 30 – 40.
- Concentrações de Bordeaux S (mg/L): 100 – 150 – 200 – 300 – 400.

A quantificação do residual do corante Bordeaux S em solução foi realizada por espectrofotometria (ZARGAR; PARHAM; HATAMIE, 2009). Alíquotas da solução filtrada da adsorção foram transferidas para cubetas de vidro e submetidas à leitura da absorbância em comprimento de onda de 520 nm no espectrofotômetro FEMTO – modelo 600 *plus*.

#### 3.2.4.4 Cinéticas e Isothermas de adsorção do cobre

Os estudos cinéticos e de isoterma da bioadsorção dos íons cobre seguiram o mesmo procedimento reportado no item 3.2.4.2. Adicionou-se 30 mL de solução aquosa com o íon  $\text{Cu}^{2+}$ , com o pH ajustado de acordo com o resultado obtido no item 3.2.4.1, em erlenmeyers de 125 mL contendo 30 mg da sericina em pó.

Os frascos foram vedados com filme de PVC. A cada tempo específico, retirou-se o respectivo erlenmeyer, e filtrou-se a solução em papel filtro (qualitativo - Whatman), reservando a solução para análise em quantificação. Foram avaliadas distintas cinéticas para determinadas temperaturas seguindo as condições abaixo descritas:

- Temperaturas (°C): 20, 40 e 60.
- Concentração de cobre (mg/L): 50
- Tempos avaliados (minutos): 2, 5, 10, 30, 60, 120.

As isotermas de biossorção foram obtidas seguindo a mesma metodologia adota para a obtenção das isotermas com o corante Bordeaux S. As condições experimentais adotadas foram:

- Temperaturas avaliadas (°C): 20, 40 e 60.
- Concentrações de cobre (mg/L): 25 – 40 – 60 – 80 – 100.

A quantificação da concentração residual dos íons de cobre divalente foi realizada por espectrofotometria mediante ensaio de complexação colorimétrica via cuprizona (LAMBDIN; TAYLOR, 1968; KHORMAEI *et al.*, 2007) em comprimento de onda de 600 nm, no espectrofotômetro FEMTO – modelo 600 *plus*.

#### 3.2.4.5 Ajuste dos modelos cinéticos e das isotermas de sorção aos dados experimentais

Os modelos matemáticos abordados nos estudos de biossorção do corante Bordeaux S e do cobre foram os descritos nos itens 2.2.5 e 2.2.6:

- Isotermas: Langmuir (equação 2.33), Freundlich (equação 2.34) e Temkin (equação 2.35)
- Cinéticas: pseudo-primeira ordem (equação 2.14), pseudo-segunda ordem (equação 2.17), difusão intrapartícula de Weber e Morris (equação 2.18) e de Crank (equação 2.23), modelo de transferência e massa em filme externo (equações 2.25; 2.26; 2.31 e 2.32).

Os valores dos parâmetros cinéticos e das isotermas de biossorção dos modelos algébricos foram obtidos por regressão não-linear adaptada ao método dos mínimos quadrados com intervalo de confiança ao nível de 95 % de probabilidade. Empregou-se o método numérico de estimação de Levenberg-Marquardt. O modelos ajustados foram realizadas no programa STATISTICA versão 7.0 da StatSoft.

O coeficiente de transferência de massa em filme externo ( $K_{TM}$ ) foi estimado mediante minimização de função objetivo (equação. 3.33) descrita pela soma dos resíduos entre os valores de concentração da solução experimental ( $C_i^{EXP}$ ) e o estimado pelo modelo ( $C_i^{CALC}$ ) por meio de algoritmo

estocástico baseado em rotina de otimização SA - Simulated Annealing (DA ROS *et al.*, 2013), em rotina computacional desenvolvida em linguagem Visual Compaq Fortran 6.6

$$F_{OBJ} = \sum_{i=1}^{NE} (C_i^{EXP} - C_i^{CALC})^2 \quad 3.33$$

Sendo:

$NE$  - numero de experimentos independentes realizados.

$C_i^{EXP}$  - concentração do soluto presente na solução obtida experimentalmente

$C_i^{CALC}$  - concentração do soluto presente na solução estimada pelo modelo

A validade dos modelos em reproduzir os dados experimentais também foi verificada pela soma dos quadrados dos resíduos ( $SQR$ ) (equação 3.34), pelo desvio padrão amostral ( $s$ ) (equação 3.35) e pelo erro médio absoluto ( $EM$ ) (equação 3.36).

$$SQR = \sum_{i=1}^{NE} (q_i^{EXP} - q_i^{CALC})^2 \quad 3.34$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{NE} (q_i^{EXP} - q_i^{CALC})^2}{NE - 1}} \quad 3.35$$

$$EM = \sum_{i=1}^{NE} \frac{|q_i^{EXP} - q_i^{CALC}|}{q_i^{CALC}} \quad 3.36$$

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os resultados para o teor de nitrogênio, umidade e cinzas nas amostras de casulo e dos fios de seda beneficiados estão descritas na TABELA 4.1.

TABELA 4.1 - CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE CASULO E FIO DE SEDA.

Amostras (% mássico)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Teor de Nitrogênio (%)**
Casulo	9,27 ± 0,16 <sup>A</sup>	1,26 ± 0,09 <sup>A</sup>	16,29 ± 0,15 <sup>A</sup>
Fio de seda	8,03 ± 0,13 <sup>B</sup>	0,49 ± 0,08 <sup>B</sup>	16,57 ± 0,15 <sup>A</sup>

\* Letras iguais na coluna indicam valores iguais conforme Teste de Tukey a 5 % de significância.

O percentual de cinzas no casulo é maior que o observado no fio de seda beneficiado, uma vez que o fio de seda passou por um processo de cozimento em água quente, favorecendo a lixiviação dos materiais inorgânicos. A diferença de umidade observada também pode ser atribuída ao processamento prévio que a seda foi submetida: o cozimento promove apenas uma pequena remoção de sericina, reduzindo com isso a capacidade de retenção e absorção de água.

O teor elevado de nitrogênio observado reflete a composição majoritária de proteína na matéria-prima, da ordem de 90 % em massa seca (VAITHANOMSAT; KITPREECHAVANIC, 2008), sendo que a diferença observada entre o fio de seda beneficiado e o casulo não é significativa.

Com o intuito de avaliar a quantidade de sericina presente nas matérias primas, as amostras de casulo e de fio beneficiado foram submetidas ao processo de extração de sericina, variando a temperatura de extração e a concentração de carbonato de sódio presente na solução aquosa extratora. A TABELA 4.2 apresenta o rendimento das extrações conforme os tratamentos adotados tanto para o casulo quanto para o fio de seda beneficiado.

Destaca-se, a partir da Análise de Variância – TABELA 4.3, a dependência do processo de extração da sericina com a temperatura e com a concentração de carbonato. O mesmo comportamento é observado para a extração de sericina da amostra fio de seda beneficiado.

TABELA 4.2 - EXTRAÇÃO DA SERICINA PARA AS AMOSTRA DE CASULO E FIO BENEFICIADO A DISTINTOS PROCESSOS DE DEGOMAGEM.

Matéria prima	Taxa de Degomagem para os distintos Tratamentos (%)			
	80 °C	120 °C	80 °C 0,5% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	120 °C 0,5% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Casulo	0,75 ± 0,68 <sup>C</sup>	23,99 ± 0,96 <sup>B</sup>	23,68 ± 0,85 <sup>B</sup>	30,04 ± 0,83 <sup>A</sup>
Fio beneficiado	1,31 ± 0,68 <sup>C</sup>	17,23 ± 0,23 <sup>B</sup>	22,08 ± 0,80 <sup>A</sup>	26,12 ± 0,12 <sup>A</sup>

\* Letras iguais na linha indicam valores iguais conforme Teste de Tukey a 5 % de significância.

TABELA 4.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PROCESSO DE DEGOMAGEM EM MEIO AQUOSO (CASULO).

Fatores	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Estatística F	Probabilidade P
Temperatura (T)	0,0644	1	0,0644	925,4**	1,48 10 <sup>-9</sup>
Conc. Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (C)	0,0643	1	0,0643	925,4**	1,48 10 <sup>-9</sup>
T x C	0,0206	1	0,0206	296,2**	1,32 10 <sup>-7</sup>
Erro	5,56 10 <sup>-4</sup>	8	7,0 10 <sup>-5</sup>		
Soma Total	0,1498	11			

\*\* - Fator significativo ao nível de 5%

Os valores inferiores de remoção de sericina observados para o fio de seda beneficiado, em comparação com os obtidos para o casulo, são decorrentes da remoção inicial de sericina no próprio processo de cozimento adotado no procedimento industrial.

Conforme a TABELA 4.2, as extrações a 80 °C sem auxílio de aditivos químicos são ineficientes para a remoção da sericina, tanto do casulo quanto do fio de seda beneficiado produzido pelo setor industrial de seda do Paraná. A baixa remoção de sericina em processos a pressão ambiente evidencia a importância da temperatura e indica porque o processo de cozimento (temperaturas abaixo de 100 °C) não é efetivo para a sua remoção.

As extrações conduzidas com carbonato promovem um incremento no rendimento de extração da sericina. As extrações de sericina do fio de seda beneficiado e do casulo seco conduzidas a 120 °C e 0,5 % m/V de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> apresentaram rendimentos de extração de 26,12 ± 0,12 % e 30,04 ± 0,83 %, respectivamente. Resultados compatíveis com os obtidos por LAMOOLPHAK, EKNAMKUL, SHOTIPRUK (2008); MARCELINO (2008) e TOMADON JR. (2011), que verificaram rendimentos de extração de sericina da ordem de 27 % a 36 % em massa.

Portanto, os estudos subsequentes de extração e recuperação de sericina para o desenvolvimento e obtenção de biossorvente aplicáveis a



processos de adsorção das soluções em estudo (corante Bordeaux S e cobre) foram conduzidos a partir da extração de sericina dos casulos a 120 °C.

Destaca-se a necessidade do desenvolvimento tecnológico do setor industrial de fiação de seda brasileiro, de forma a obter a seda com menor teor de sericina, obtendo um produto de maior qualidade para a indústria têxtil; além da possibilidade de recuperação da sericina degomada e reaproveitamento como subproduto.

## 4.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A partir da definição do uso das amostras de casulo, efetuou-se o estudo do efeito da temperatura e da concentração de casulo em água na taxa de degomagem, conforme delineamento fatorial  $3^2$  proposto (TABELA 3.1). A FIGURA 4.1 apresenta o perfil observado para a taxa de degomagem no delineamento proposto.

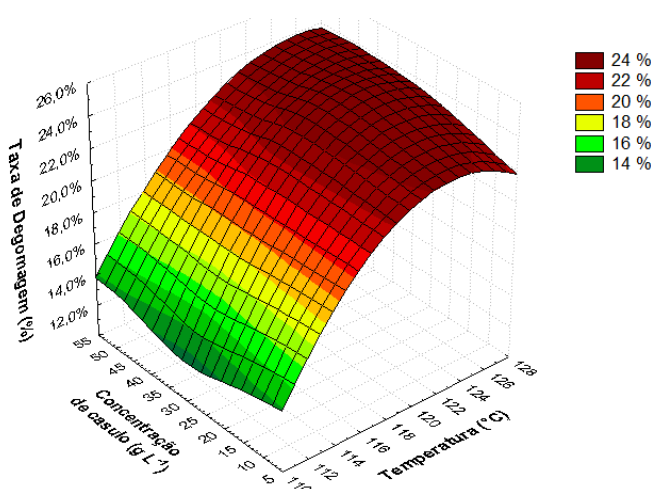


FIGURA 4.1 - TAXA DE DEGOMAGEM PARA EXTRAÇÃO EM AUTOCLAVE.

A partir do ilustrado pela FIGURA 4.1 e o observado por Análise de Variância (TABELA 4.4), o efeito da temperatura é significativo e a concentração de casulos não interfere na taxa de degomagem nos níveis avaliados. As concentrações estipuladas de casulo em solução seguem de acordo com o utilizado por outros autores (MARCELINO, 2008; TURBIANI, 2010; TOMADON JR., 2011).

TABELA 4.4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PROCESSO DE DEGOMAGEM PARA DISTINTAS TEMPERATURAS E CONCENTRAÇÕES DE CASULO.

Fatores	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Estatística F	Probabilidade P
Temperatura	0,043312	2	0,021656	421,6662**	$2,86 \cdot 10^{-18}$
Concentração	0,000048	2	0,000024	0,4665	0,633235
Erro	0,001130	22	0,000051		
Soma Total	0,044490				

\*\* - Fator significativo ao nível de 5%

Conforme a FIGURA 4.1, o efeito da temperatura é favorável, observando um máximo a partir de 120 °C. Acima deste valor, a extração não apresenta diferença estatística significativa. No trabalho realizado por MARCELINO (2008), a temperatura ótima de extração foi avaliada em 124 °C, e acima disto o autor presume que ocorre hidrólise parcial da sericina.

O perfil de distribuição de massa molar observado para as soluções contendo sericina extraídas nas distintas temperaturas indicou a mesma distribuição e massa molar, na faixa de 20 kDa a 400 kDa, com predominância de estruturas na faixa de 200 kDa a 100 kDa, conforme FIGURA 4.2.

Conforme se reporta na literatura, a sericina presente na composição do casulo do bicho da seda possui frações molares distintas. TAKASU, YAMADA e TSUBOUCHI (2002) identificaram, mediante análise por eletroforese, três frações molares de amostras de sericina retiradas diretamente da seção intermediária da glândula produtora do fio da seda: 400 kDa, 250 kDa e 100 kDa. Os polipeptídios naturais da sericina presente no casulo, quando submetidos a processos de extração térmicos ou químicos, sofrem processo de hidrólise parcial da estrutura primária, de forma a gerar uma ampla distribuição de massa molar.

No estudo desenvolvido por CAPAR, AYGUN e GECIR (2008), o perfil de massa molar da sericina presente em amostras do efluente da etapa de cozimento industrial apresentaram distribuição da ordem de 10 kDa a 200 kDa, com massa molar média entre 70 kDa e 80 kDa. LAMOOLPAHAK *et al.* (2008) obtiveram distribuição de massa molar variando de 10 a 225 kDa para sericina obtida mediante extração aquosa 120 °C por 30 minutos.

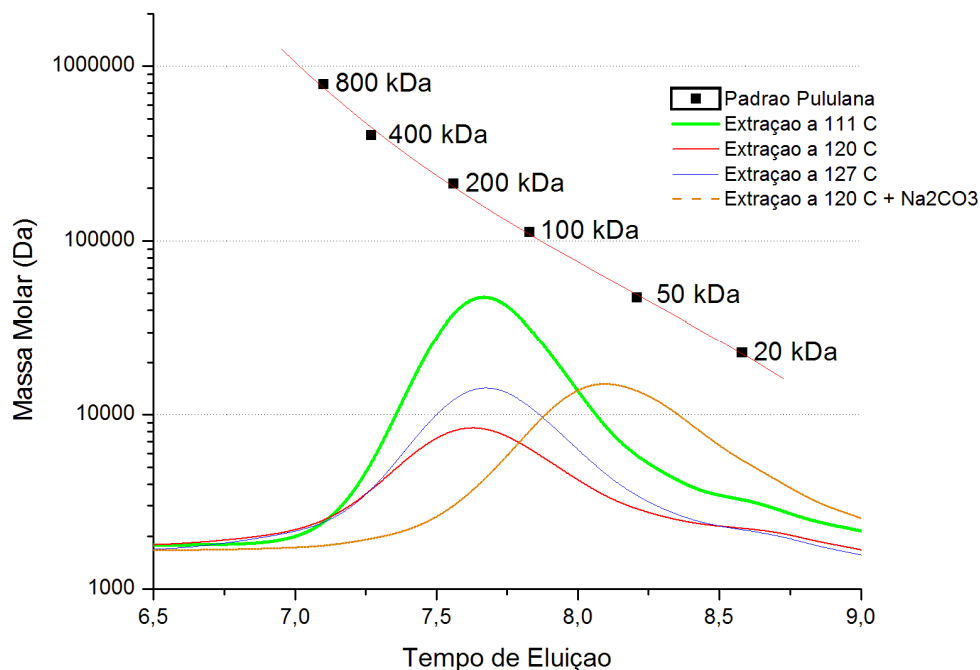


FIGURA 4.2 - DISTRIBUIÇÃO DE MASSA MOLAR DAS EXTRAÇÕES A DISTINTAS TEMPERATURAS.

Embora a extração conduzida com solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5% a 120 °C tenha resultado em maior rendimento de extração da sericina, a distribuição de massa molar obtida apresenta-se inferior a 200 kDa e predominância de polipeptídios na ordem de 50 kDa (FIGURA 4.2). O perfil evidencia um processo de degradação das cadeias de sericina maior que os processos conduzidos apenas pelo efeito da temperatura.

Em complemento ao estudo proposto, foi avaliado o efeito do tempo de exposição dos casulos às temperaturas de extração. A FIGURA 4.3 apresenta o valor médio da taxa de degomagem observado para cada tempo de operação na temperatura de 120 °C. O valor de degomagem observado no tempo nulo foi considerado como a taxa de extração obtida no período de aquecimento da autoclave até a temperatura de 120 °C. Em decorrência dos experimentos terem sido conduzidos em autoclave vertical em sistema de batelada, o dispositivo apresentava uma rampa de aquecimento, desde a temperatura ambiente até a temperatura de estudo desejada. Portanto, o efeito da rampa de aquecimento sobre a taxa de extração da sericina, tanto o tempo de pressurização da autoclave quanto o gradiente de aquecimento da mesma, foram estimados e seguem descritos na TABELA 4.5:

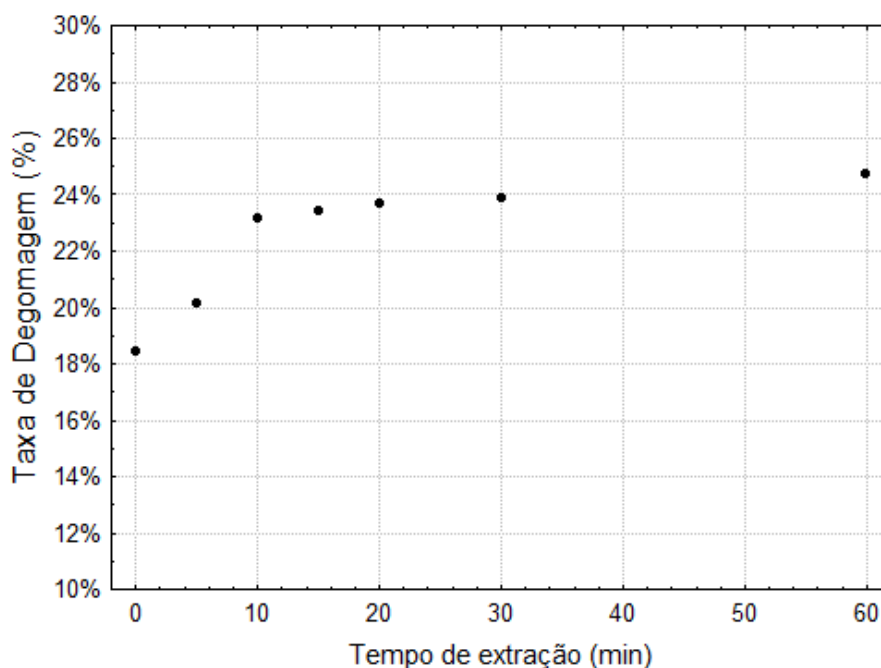


FIGURA 4.3 - EFEITO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO

TABELA 4.5 - TAXA DE DEGOMAGEM DURANTE O PERÍODO DE AQUECIMENTO DA AUTOCLAVE ATÉ A TEMPERATURA DE EXTRAÇÃO<sup>1</sup>.

Temperatura de Equilíbrio (°C)	Tempo de Aquecimento <sup>2</sup> (min)	Taxa de degomagem durante o aquecimento (%)	Taxa de Degomagem na Temperatura de equilíbrio (%) <sup>3</sup>
111	8	7,74 ± 1,64 <sup>C</sup>	15,10 ± 0,10 <sup>B</sup>
120	16	18,43 ± 0,23 <sup>B</sup>	23,99 ± 0,96 <sup>A</sup>
127	25	23,59 ± 0,25 <sup>A</sup>	24,01 ± 0,12 <sup>A</sup>

<sup>1</sup> Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam médias iguais conforme Teste de Tukey a 5 % de significância.

<sup>2</sup> Tempo de aquecimento computado após a autoclave atingir a temperatura de ebulição a pressão ambiente.

<sup>3</sup> Tempo de extração de 20 minutos, concentração de casulo: 1,0 % m/V.

Os valores de remoção de sericina observados na rampa de aquecimento ilustram o efeito significativo da exposição simples ao aquecimento até o equilíbrio. O período de aquecimento da extração a 127 °C obteve média de extração similar ao valor do processo em 127 °C durante 20 minutos, ou seja, o período de exposição de 25 minutos para a autoclave aquecer de 100 °C a 127 °C foi suficiente para obter o máximo de rendimento de extração por ação térmica durante o tempo da rampa de aquecimento.

O período de aquecimento da autoclave para temperatura de 111 °C ocasionou a remoção de 7,74 % da sericina, o que equivale a 51,3 % do rendimento obtido no processo a 111 °C, operado durante 20 minutos na temperatura em questão. O período de aquecimento a 120 °C promoveu a

remoção de 18,43 % da sericina da massa total, equivalente a 76,8 % do total obtido no processo a 120 °C durante os 20 minutos de exposição na respectiva temperatura. A exposição do casulo durante o período de aquecimento até 127 °C foi o suficiente para obtenção do máximo rendimento de extração possível por ação térmica, independente do tempo posterior de exposição a 127 °C.

A partir da FIGURA 4.3, pode-se observar que o tempo de aquecimento é relevante para extração, especialmente nos instantes iniciais. A sericina removida, tida como a sericina solúvel é a porção mais externa de sericina disposta no casulo, portanto mais suscetível a solubilização. O efeito da temperatura, entretanto, favorece a solubilização de frações mais fortemente ligadas à fibroína, especialmente àquelas porções ligantes entre as fibras de fibroína. A partir de 15 minutos, não se observa diferença estatisticamente significativa na extração, de forma que a exposição prolongada não agrega maior rendimento de extração.

Destaca-se que o processo de extração exclusivamente por ação térmica não permite a extração total da sericina. Conforme PADAMWAR e PAWAR (2004), a sericina do tipo C, com maior composição de estrutura folha- $\beta$  e internamente ligadas às cadeias de fibroína, possui menor solubilização, de modo que apenas por meio de hidrólise (via química ou enzimática) é alcançada a sua remoção. Temperaturas excessivamente altas, acima de 160°C, podem promover hidrólise térmica da sericina e a solubilização parcial da fibroína (MARCELINO, 2008).

#### 4.3 PERFIL REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES CONTENDO SERICINA

O comportamento reológico à temperatura ambiente das soluções de sericina (obtidas pela extração aquosa a 120 °C por 20 minutos) extraídas nas proporções de casulo de 1, 3 e 5 % m/V, após 01 e 24 horas do processo de extração são ilustradas na FIGURA 4.4 (a-b).

As curvas de tensão de cisalhamento e de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento e de viscosidade por cisalhamento da solução de sericina obtida a partir da extração aquosa com concentração de casulo de

5% m/V, 24 horas após a extração (FIGURA 4.4-b), foram geradas no intervalo de 0 a 100  $\text{s}^{-1}$  devido à alta viscosidade da solução. Acima de 100  $\text{s}^{-1}$ , as medidas de tensão de cisalhamento e viscosidade aparente apresentavam erros de análise significativos, com a configuração instrumental utilizada (spindle 18, temperatura ambiente de medição).

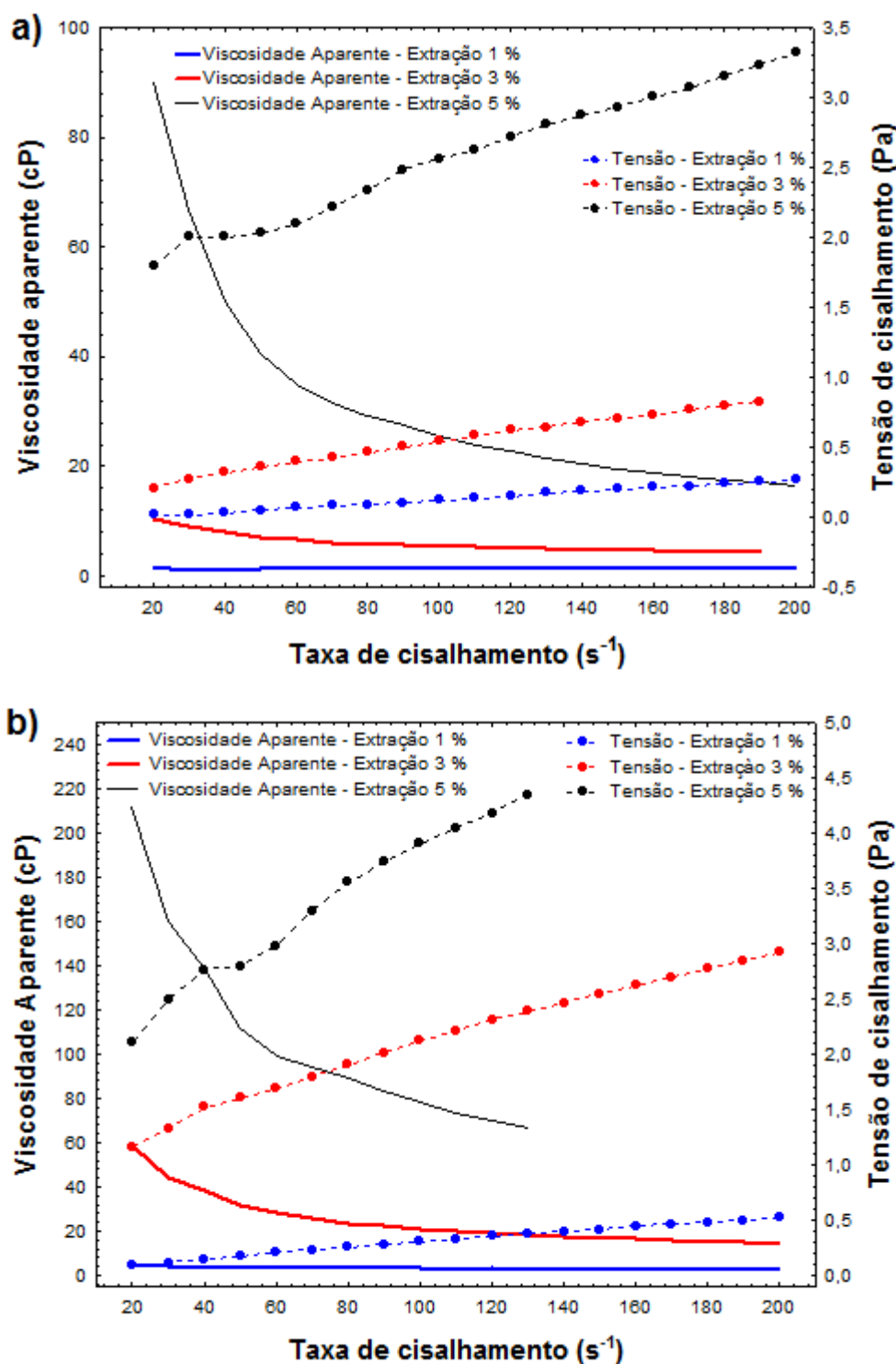


FIGURA 4.4 - COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS SOLUÇÕES DE SERICINA  
a) 1 HORA APÓS A EXTRAÇÃO; b) 24 HORAS APÓS A EXTRAÇÃO

TABELA 4.6 - AJUSTE DO MODELO DE HERSHCHEL-BULKLEY PARA AS SOLUÇÕES AQUOSAS DE SERICINA.

Amostras	$\tau_0$ (Pa)	$\mu_0$ (Pa s)	$n$	EM	SQR	S
Extração – 1 %						
Solução – 1 h	$-0,0173 \pm 0,0063$	$0,0012 \pm 0,0003$	$1,0390 \pm 0,0516$	1,3283	0,0005	0,0057
Solução – 24 h	$-0,0124 \pm 0,0109$	$0,0105 \pm 0,0017$	$0,7419 \pm 0,0282$	0,0652	0,0003	0,0045
Extração – 3 %						
Solução – 1 h	$0,0652 \pm 0,0151$	$0,0174 \pm 0,0027$	$0,7199 \pm 0,0263$	2,0637	0,0856	0,0710
Solução – 24 h	$0,6508 \pm 0,0559$	$0,0795 \pm 0,0132$	$0,6328 \pm 0,0272$	0,1995	0,0050	0,0172
Extração – 5 %						
Solução – 1 h	$1,5796 \pm 0,0786$	$0,0161 \pm 0,0076$	$0,8834 \pm 0,0821$	0,2471	0,0313	0,0429
Solução – 24 h	$1,3356 \pm 0,3261$	$0,1645 \pm 0,1045$	$0,6984 \pm 0,1281$	0,8777	0,1328	0,0884

Destaca-se, a partir da TABELA 4.6 e conforme o comportamento ilustrado na FIGURA 4.4, que as soluções contendo sericina obtidas a partir de extração aquosa a 120 °C possuem comportamento não-Newtoniano, uma vez que o índice de comportamento viscoso ( $n$ ) do modelo avaliado apresenta-se diferente da unidade. O modelo de Hershchel-Bulkley apresenta excelente reprodutibilidade para os valores de tensão de cisalhamento, com valores de Desvio Médio Amostral ( $s$ ) variando entre 0,0045 e 0,0884, Soma Quadrática dos Resíduos ( $SQR$ ) entre 0,0005 e 0,1328, e Erro Médio Amostral ( $EM$ ) variando entre 2,0637 e 0,0652.

O comportamento Newtoniano verificado para a solução de sericina obtida a partir da extração com proporção de casulo de 1 % (m/V) deve-se a concentração reduzida de sericina em solução, com valor de índice de comportamento viscoso de  $1,0390 \pm 0,0516$ . Entretanto, a mesma solução apresenta comportamento não-Newtoniano após 24 horas de repouso, com perfil típico de fluido pseudoplástico (decaimento da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento, como indica a FIGURA 4.4-b), desvio da idealidade, com índice de comportamento viscoso de  $0,7419 \pm 0,0282$ .

O valor do índice de comportamento viscoso  $n$  diminui com o tempo de repouso, indicando que a solução apresenta comportamento reológico variável com o tempo. Comparando as FIGURAS 4.4-a e 4.4-b, observa-se valores de viscosidade aparente da ordem de 90 cP para a solução obtida na extração 5 % com 1 hora de repouso (taxa de cisalhamento de  $10 \text{ s}^{-1}$ ), enquanto que a mesma solução após 24 horas apresentou valores da ordem de 210 cP para taxa de cisalhamento de  $10 \text{ s}^{-1}$ .

Conforme DAMODARAN (2010), diversas proteínas em meio aquoso tendem a se reorganizar em solução (na ausência de forças externas) ocasionando mudanças em propriedades físicas das soluções, como a propriedades reológicas. Devido a diversos fatores, tais como a composição de aminoácidos, a concentração em solução e a temperatura, determinados grupos de aminoácidos tendem a interagir entre si ou com a água, de forma a proteger a fração de caráter apolar da proteína do meio solvatado. A evolução destas interações proporciona a reticulação das proteínas, convertendo a fase solúvel (“sol”) em uma estrutura com conformação similar à fase sólida (“gel”).

Para a avaliação da mudança conformacional da sericina ao longo do tempo, foi efetuada a medida da transmitância da solução contendo a em função do tempo. A FIGURA 4.5 apresenta a variação de transmitância das soluções de sericina obtidas em extrações aquosas com diferentes proporções de casulo (1, 3 e 5 % m/V) a 120 °C por 20 minutos. Conforme metodologia proposta por ZHU, ARAÍ e HIRABAYASHI (1995), soluções que apresentam capacidade de gelificação apresentam redução da transmitância ao longo do tempo, devido às mudanças conformacionais que a proteína sofre decorrentes das ligações intramoleculares, gerando novas orientações para as cadeias polipeptídicas. A estrutura na forma de gel, portanto, apresenta maior resistência a passagem da luz e, portanto, menor valor de transmitância.

Os ensaios foram conduzidos conforme as condições de extração, sem a adição de eletrólitos (que ocasionam a mudança da força iônica do meio) ou correção de pH. Portanto, a mudanças estruturais observadas nos ensaios em questão podem ser aproximadas apenas pelas características químicas da sericina e sua interação com o meio aquoso.

A FIGURA 4.5 indica, para ambas as concentrações avaliadas a variação da transmitância (em comprimento de onda de 400 nm) em decorrência da mudança de conformação da sericina em água. A extração conduzida com proporção de casulo de 1% obteve menor variação da transmitância, em decorrência da menor concentração de sericina no meio, indicando apenas o espessamento da solução, sem a mudança da fase “sol” para “gel”.



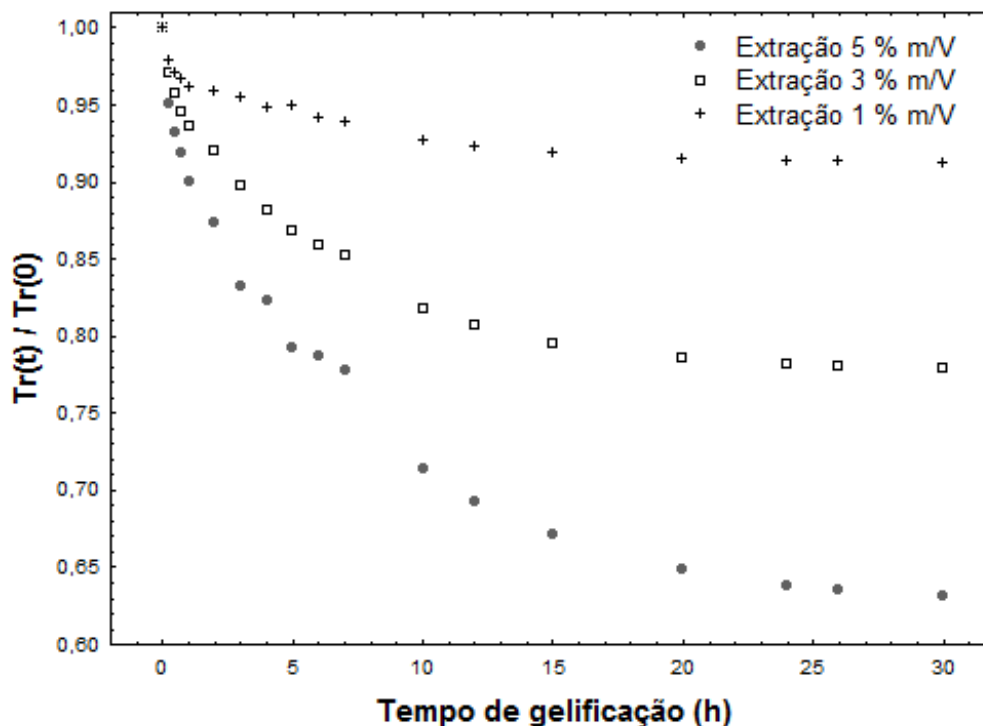


FIGURA 4.5 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA DAS SOLUÇÕES CONTENDO SERICINA.

As amostras das extrações com proporção de casulo de 1, 3 e 5 % m/V apresentaram variações da transmitância da ordem de 9,2%, 22,9 % e 38,5%; respectivamente (TABELA 4.7). A maior variação de transmitância observada para a solução com maior concentração de sericina indica a maior capacidade de gelificação, comportamento similar ao obtido por ZHU, ARAÍ e HIRABAYASHI (1995).

TABELA 4.7 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA PARA AS DISTINTAS SOLUÇÕES DE SERICINA OBTIDAS NAS EXTRAÇÕES A 120 °C EM MEIO AQUOSO.

Soluções obtidas nas proporções (% m/V)	Conc. de sericina (g L <sup>-1</sup> )	Transmitância Inicial (%)	Transmitância final (após 30 horas)	Redução da Transmitância (%)
1,0	1,89 ± 0,10	73,50 ± 0,05	66,50 ± 0,05	9,2
3,0	5,64 ± 0,10	44,10 ± 0,05	34,00 ± 0,05	22,9
5,0	9,79 ± 0,10	22,10 ± 0,05	13,50 ± 0,05	38,5

Após o tempo decorrido, verificou-se que tanto a amostra com proporção de casulo de 3 % m/V quanto a de 5 % m/V apresentavam-se rígidas, sem a devida fluidez característica da solução obtida logo após a extração. Conforme afirma PADAMWAR *et al.* 2005, a transição das soluções de sericina da fase “sol” para a fase “gel” ocorre devido ao rearranjo estrutural da sericina, convertendo uma fração de sua estrutura aleatória em folha  $\beta$ , o que confere

maior estabilidade ao complexo de hidratação, formando o gel. Este processo de gelificação, portanto, confere maior aglomeração das moléculas, reduzindo a capacidade de transmissão de luz no meio.

Em decorrência da variação do comportamento reológico observado ao longo do tempo, os géis obtidos com as soluções aquosas contendo sericina foram submetidos à análise da reologia oscilatória, para caracterizar o gel formado pela solução.

A partir da curva de varredura de tensão (FIGURA 4.6-a) foi verificado que os módulos de armazenamento ou elástico ( $G'$ ) e de perda ou viscoso ( $G''$ ) apresentam faixa linear estável entre 0,01 Pa e 10 Pa, independente da frequência, caracterizando uma região viscoelástica linear, ou de gel estável. Dentro desta região foi escolhida a tensão de 1,0 Pa para realização das varreduras de frequência.

De acordo com a varredura de frequência, é perceptível que as soluções aquosas contendo sericina, obtidas a partir da extração contendo 3,0 e 5,0 % m/V de casulo em água, apresentam  $G'$  superior ao  $G''$  (FIGURA 4.6-b). Conforme IZIDORO *et al.* (2011), o paralelismo entre as  $G'$  e  $G''$  indica que ambas as amostras apresentam caráter sólido ou elástico superior ao caráter líquido ou viscoso, para o intervalo de frequência avaliado.

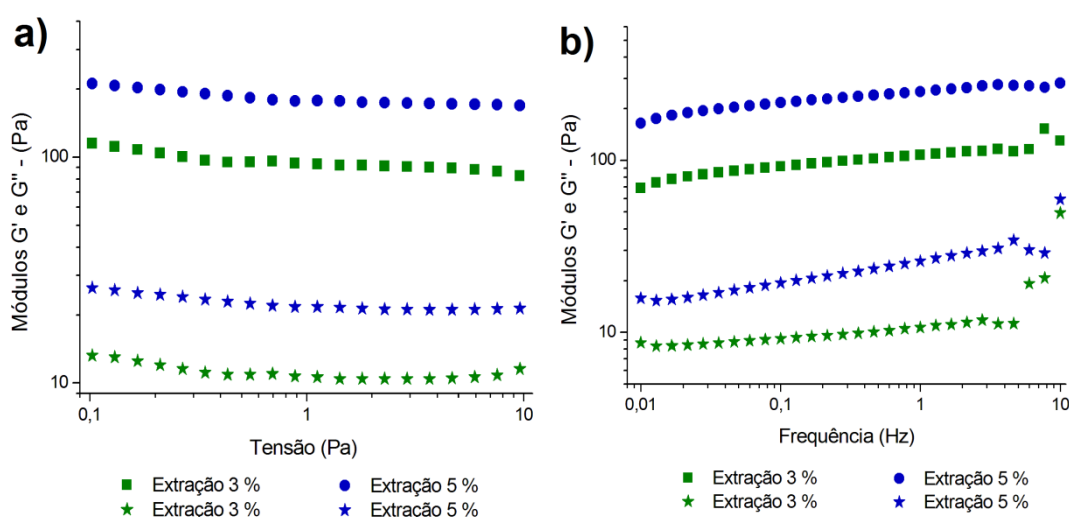


FIGURA 4.6 - VARREDURA DE TENSÃO (A) E DE FREQUÊNCIA (B).

Destaca-se, ainda, que em função da independência dos valores de  $G'$  e  $G''$  quanto à variação da frequência e diferença entre os valores de  $G'$  e  $G''$  da ordem de grandeza 10 vezes, o gel formado pelas soluções de sericina é classificado como gel forte (RAO, 2007).

A partir da varredura de temperatura (FIGURA 4.7), à frequência de 1,0 Hz e tensão de 1,0 Pa, observa-se que os géis foram estáveis no intervalo de 20 °C até temperaturas próximas a 60°C, mantendo o paralelismo das curvas dos módulos  $G'$  e  $G''$ . A partir desta temperatura,  $G'$  e  $G''$  mudam a inclinação passando a convergir, ou seja, diminuindo a força do gel. O fenômeno de *cross-over* ocorre em temperaturas acima de 90°C (quando as curvas de  $G'$  e  $G''$  se cruzam), ou seja, nesta temperatura a solução não se caracteriza como gel.

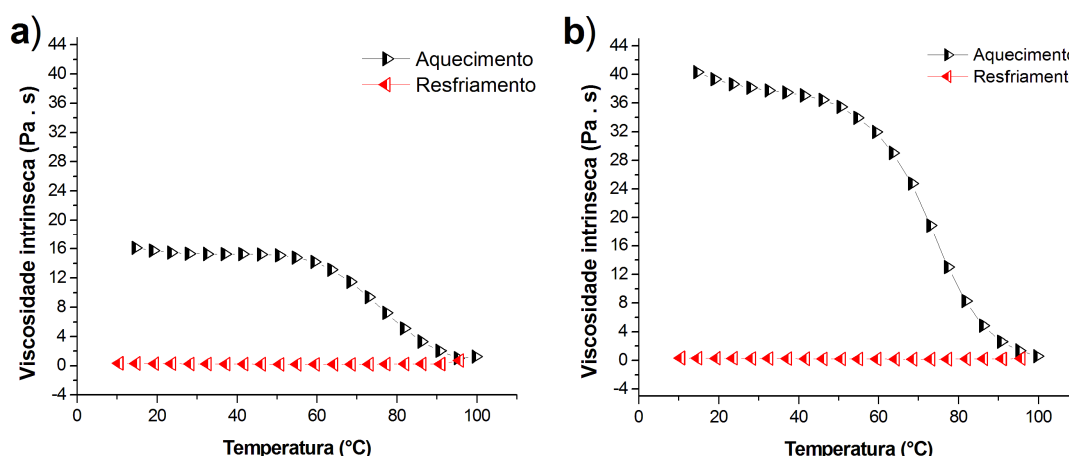


FIGURA 4.7 - VARREDURA DE TEMPERATURA.  
a) EXTRAÇÃO – 3 % m/V, B) EXTRAÇÃO – 5 % m/V.

Após atingir a temperatura de desagregação do gel (*cross-over*), foi efetuado o resfriamento da solução, de forma a avaliar a capacidade de reconstituição da estrutura do gel. No período de resfriamento avaliado, observa-se que a solução de sericina não consegue se reestruturar na forma de gel, uma vez que as curvas  $G'$  e  $G''$  apresentam valores equivalentes. Este comportamento era esperado, uma vez que a cinética de gelificação observada na FIGURA 4.5 é mais lenta do que no período de tempo ao qual a solução sofreu o resfriamento no teste de varredura de temperatura (rampa de resfriamento com taxa de resfriamento de 3 °C min<sup>-1</sup>). Portanto, o tempo da rampa de resfriamento foi insuficiente para permitir a possível reestruturação do gel.

#### 4.4 PERFIL DE AMINOÁCIDOS

A TABELA 4.8 apresenta o resultado de perfil de aminoácidos da sericina obtida do processo de extração aquosa a 120 °C, em conjunto com valores obtidos em literatura para a composição de aminoácidos da sericina e fibroína, referentes à espécie (*Bombyx mori*).

De acordo com perfil de aminoácidos apresentado (TABELA 4.8) a sericina possui maior quantidade de aminoácidos com grupos funcionais com carga líquida negativa (ácido aspártico e ácido glutâmico), aminoácidos polares com carga neutra (sericina, treonina e tirosina) e aminoácidos polares com carga líquida positiva (histidina, lisina e arginina) correspondentes a 17,3 %, 27,8% e 16,3%, respectivamente; por outro lado, valores de literatura indicam que a fibroína apresenta composição percentuais dos mesmos grupos polares da ordem de 3,7 %, 13,5 % e 1,0%, respectivamente (PARK; JIN; HYUN, 2002).

Comparando-se os perfis da sericina obtida pelo processo de extração da referenciada em literatura (ZHANG *et al.*, 2006) e da amostra comercial hidrolisada, verifica-se que a sericina obtida pelo processo de extração aquosa apresenta menor teor de grupos hidrofílicos (61,36 %) frente às outras amostras de sericina (70,57 % e 69,05%).

Verificam-se concentrações elevadas de glicina (23,20 %), arginina (11,95 %) e tirosina (6,37 %) na sericina extraídas por meio aquoso, em comparação às referências apresentadas na TABELA 4.8. Destaca-se que a sericina obtida mediante a extração aquosa dos casulos produzidos no Estado do Paraná apresentou composição de aminoácidos essenciais da ordem de 11,58 %, superior ao valor registrado para a fibroína 7,66 %, e valores similares aos reportados em literatura para a sericina (ZHANG *et al.* 2006). A amostra comercial de sericina apresenta valor pouco inferior, de 10,24 %.

TABELA 4.8 - AMINOÁCIDOS CONSTITUINTES DA SERICINA E REFERÊNCIAS.

Aminoácidos	Extração (% mol)	Literatura <sup>1</sup> (% mol)	Comercial (% mol)	Fibroína <sup>2</sup> (% mol)
Serina	21,56	25,28	24,50	11,86
Ácido aspártico	14,00	20,57	14,99	1,64
Glicina	23,20	10,51	20,90	40,51
Treonina + alanina	7,04	11,93	6,84	33,12
Ácido glutâmico	3,30	7,90	8,55	2,01
Arginina	11,95	5,96	9,25	0,88
Lisina	3,18	4,68	5,03	0,14
Tirosina	6,23	4,47	3,67	1,59
Valina	3,36	3,79	2,15	4,20
Histidina	1,13	1,75	1,06	-
Leucina	2,08	1,36	1,19	0,68
Fenilalanina	1,29	0,96	0,59	1,28
Isoleucina	0,90	0,88	0,65	1,05
Cisteína	-	0,72	-	0,02
Prolina	-	-	-	0,71
Metionina	0,77	-	0,63	0,10
Triptofano	-	-	-	0,21
(%) Hidrofílica	61,36	70,57	67,05	18,14
(%) Hidrofóbico	38,64	29,43	32,95	81,86
(%) aminoácidos essenciais <sup>3</sup>	11,58	11,67	10,24	7,66
(%) Grupos polares com carga neutra <sup>4</sup>	27,79	29,75	13,45	28,17
(%) Grupos com carga negativa <sup>5</sup>	17,30	28,47	3,65	23,54
(%) Grupos com carga positiva <sup>6</sup>	16,26	12,39	1,02	15,34

1 – Adaptado de ZHANG *et al* 2006

2 – Adaptado de PARK; JIN; HYUN, 2002

3 – Aminoácidos essenciais: treonina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, isoleucina, triptofano e lisina.

4 – Aminoácidos: serina, tirosina, treonina.

5 – Aminoácidos: ácido aspártico e ácido glutâmico.

6 – Aminoácidos: arginina, lisina, histidina.

A presença de grupos polares e grupos com carga líquida efetiva (positivas e negativas) conferem à molécula de sericina a capacidade de interação mediante mecanismos de complexação metálica (WU *et al.*, 2008); interações intramoleculares por ligações hidrogeniônicas (aminoácidos com grupos hidroxilados, tais como a serina e a tirosina), dipolo-dipolo permanentes e eletrostáticas (grupos com cargas líquidas positivas como a arginina ou os grupos com carga líquida negativa como os ácidos aspártico e glutâmico).

## 4.5 ULTRAFILTRAÇÃO TANGENCIAL

### 4.5.1 Avaliação dos parâmetros operacionais

A FIGURA 4.8 apresenta o comportamento do fluxo de permeado observado para a solução, no regime estacionário, em comparação com o fluxo da membrana com água, para membrana com área superficial de 320 cm<sup>2</sup>. Observa-se que para qualquer pressão transmembrana aplicada, o valor de fluxo de permeado é inferior ao fluxo de permeado do solvente, na mesma pressão correspondente.

Neste caso, o processo está em operação acima da condição de fluxo crítico, ou seja, os efeitos restritivos de *fouling* são superiores aos efeitos de renovação de superfície, ocasionando obstrução da membrana e queda de fluxo de permeado ao longo do tempo (KWON *et al.*, 2000). Portanto, a limpeza química da membrana fez-se necessária.

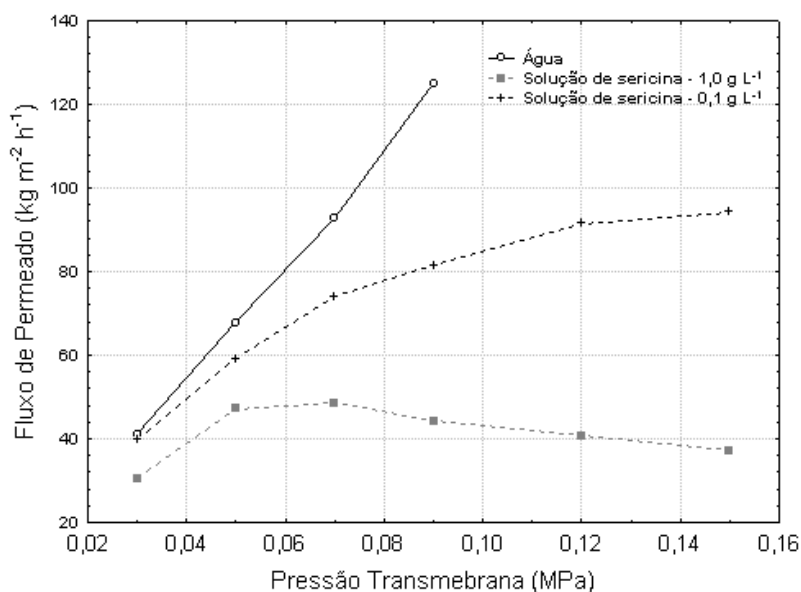


FIGURA 4.8 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NO FLUXO DE PERMEADO A DISTINTAS PRESSÕES TRANSMEMBRANAS.

O processo de retrolavagem com água microfiltrada, durante uma hora a pressão média de 0,10 MPa, resultou em recuperação do fluxo de 67,9 %, em comparação com o fluxo inicial com a membrana limpa. Mediante limpeza

química (membrana em repouso com uma solução de NaOH 1,0 % m/V durante 24 horas, seguido de enxágue e limpeza com hipoclorito de sódio 500 ppm por uma hora) obteve-se uma recuperação do fluxo de permeado de 103,7 %. O procedimento em questão foi adotado para a recuperação da permeabilidade hidráulica da membrana durante todos os ensaios subseqüentes, notadamente entre cada ensaio independente nos estudos dos modos de operação em regime fechado, batelada, diafiltração e batelada associada à retrolavagem.

O processo de ultrafiltração foi inicialmente avaliado em regime de reciclo total, com o intuito de avaliar as variáveis operacionais sobre o fluxo de permeado, a pH constante. Neste sistema, evita-se a variação da concentração em decorrência da remoção de solvente no permeado, carreando em aumento da concentração de proteína ao longo do tempo.

A partir das FIGURAS 4.9 e 4.10 observa-se que a presença de sericina na solução interfere no processo. Quanto maior a concentração, maior o efeito resistivo promovido pela retenção da mesma na membrana, ocasionando a queda do fluxo de permeado. Para concentrações diluídas, o aumento da pressão transmembrana favorece a permeação (FIGURAS 4.8, 4.9 e 4.10).

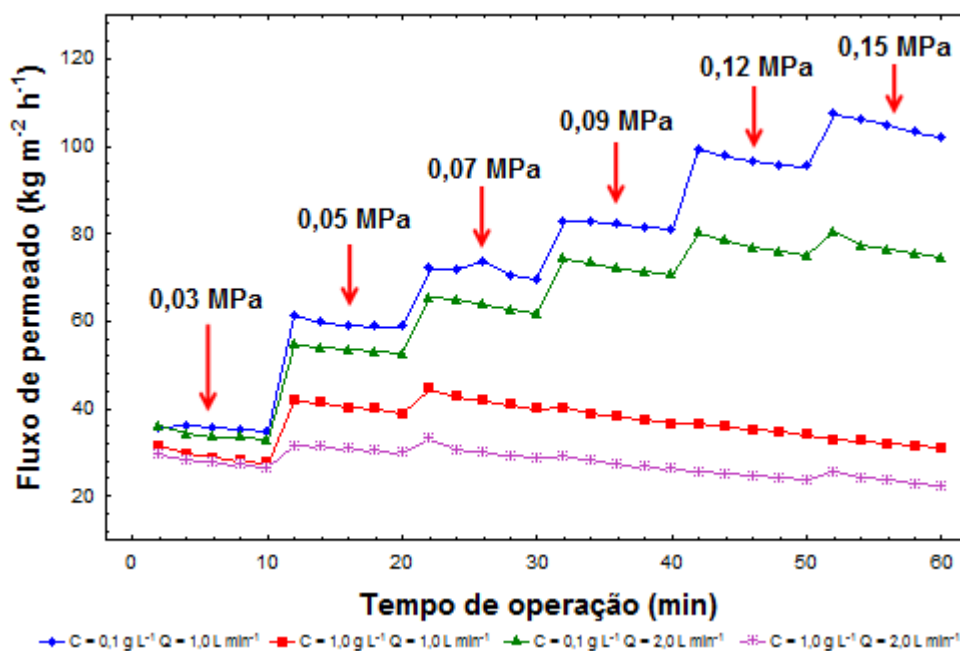


FIGURA 4.9 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE SERICINA E VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO NO FLUXO DE PERMEADO, ÁREA SUPERFICIAL DE 320 cm<sup>2</sup>.

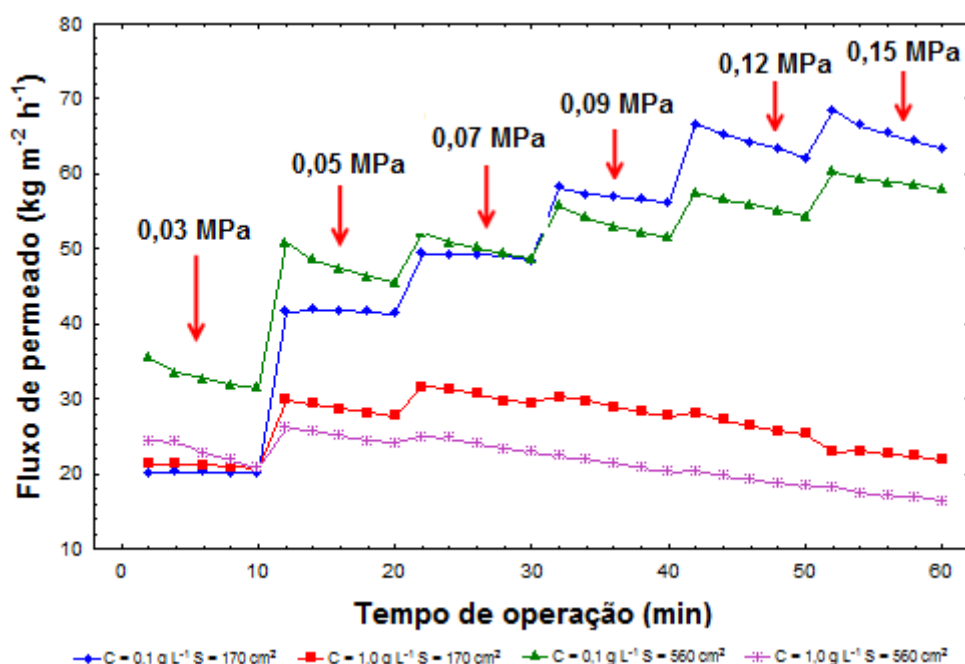


FIGURA 4.10 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE SERICINA E DA ÁREA SUPERFICIAL NO FLUXO DE PERMEADO, VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO DE 1,0 L min<sup>-1</sup>.

O efeito da vazão de alimentação não foi favorável ao processo. A TABELA 4.9 apresenta os valores de velocidade tangencial e números de Reynolds para as vazões de alimentação de 1,0 L min<sup>-1</sup> e 2,0 L min<sup>-1</sup>, sendo que o número de Reynolds variou de 73,7 a 157,6. Independente das vazões de alimentação estudadas, o regime de escoamento é estritamente laminar, de forma que o aumento da velocidade superficial proposto (valores restritos à capacidade da unidade de ultrafiltração utilizada) não contribui para os efeitos de renovação da superfície, e ainda ocasionou a redução do valor de fluxo de permeado.

TABELA 4.9 - EFEITO DA VELOCIDADE NO PERFIL DE ESCOAMENTO.

Vazão de Alimentação (L min <sup>-1</sup> )	Concentração inicial de Sericina (g L <sup>-1</sup> )	Velocidade tangencial (m s <sup>-1</sup> )	Número de Reynolds
1,0	0,1	0,088	78,6
1,0	1,0	0,088	73,7
2,0	0,1	0,176	157,6
2,0	1,0	0,176	147,3

Conforme relata SONJUI *et al.* (2009), a sericina possui efeito adesivo intenso, de forma que interage com a membrana, tanto por adsorção com os sítios ativos como por obstrução e selamento dos poros internos. O aumento



da vazão, sem a devida mudança de regime de escoamento, não contribui para o efeito de cisalhamento da solução.

No caso observado, pressupõe-se que o aumento da vazão dentro de um intervalo de velocidade tal que não ocorre a mudança de regime de escoamento, aumenta a taxa de passagem de sericina, ou seja, maior o fluxo tangencial de sericina ao longo da membrana, favorecendo o maior acúmulo de material na superfície da membrana a determinado valor de pressão transmembrana.

A partir da TABELA 4.10 verifica-se que a membrana com área superficial de 560 cm<sup>2</sup> apresentou maior permeabilidade hidráulica inicial que a membrana de 170 cm<sup>2</sup>. Entretanto, a membrana com área superficial de 560 cm<sup>2</sup> apresentou valores de permeabilidade com a membrana obstruída similar a da membrana com área superficial de 170 cm<sup>2</sup>, independente da concentração.

TABELA 4.10 - EFEITO DA ÁREA SUPERFICIAL E CONCENTRAÇÃO NA PERMEABILIDADE DA MEMBRANA.

Área Superficial (cm <sup>2</sup> )	Concentração inicial de Sericina (g L <sup>-1</sup> )	Permeabilidade Hidráulica – Limpa (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> )	Permeabilidade Hidráulica – Suja (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> )	Grau de Obstrução (%)*
170	0,1	99,00 ± 22,83	68,81 ± 22,83	30,5
170	1,0	111,59 ± 33,90	40,55 ± 11,62	63,7
560	0,1	158,19 ± 21,23	65,34 ± 6,26	58,7
560	1,0	151,78 ± 19,70	34,30 ± 11,89	77,4

\* Grau de obstrução obtido pela relação =  $[1 - \text{Permeabilidade Suja} / \text{Permeabilidade Limpa}] \%$

Nota-se, a partir da FIGURA 4.10, que o fluxo de permeado com a membrana de área superficial de 560 cm<sup>2</sup> tende a ser superior ao da membrana com área de 170 cm<sup>2</sup>, para baixos valores de pressão transmembrana, enquanto que para valores acima de 0,05 MPa verificou-se a inversão do comportamento.

Conforme apresenta PERSSON, GEKAS E TRÄGARDH (1995), membranas poliméricas sofrem ação de compactação em decorrência da exposição da superfície aos gradientes de pressão transmembrana. A membrana polimérica tende a se deformar mecanicamente sob ação de tensão externa em decorrência da mobilidade das estruturas das cadeias poliméricas. Quando submetidas à tensão de compressão (pressão transmembrana), pode

ocorrer à compactação mecânica da camada seletiva das membranas anisotrópicas, ocasionado a queda de fluxo de permeado mesmo com a passagem apenas de solvente.

Portanto, embora os módulos utilizados sejam do mesmo material (polissulfona) e confeccionados pela mesma empresa (mesmo processo tecnológico), a membrana de área superficial de 560 cm<sup>2</sup> sofre efeito de compactação mecânica maior durante a operação a pressões transmembrana elevadas, ocasionado uma queda do fluxo de permeado maior que para a membrana de 170 cm<sup>2</sup>.

#### 4.5.2 Processos de concentração

Com o intuito de recuperar frações molares de sericina de alta massa molar, soluções contendo concentrações de 3,0 g L<sup>-1</sup> foram processadas com membrana com área superficial de 560 cm<sup>2</sup> à pressão transmembrana fixa de 0,05 MPa em distintos modos de operação.

O perfil de distribuição de massa molar das correntes de permeado, obtidas no modo de operação em batelada, segue ilustrado nas FIGURAS 4.11(a) e 4.11(b). O fracionamento da solução de sericina em porções de alta massa molar (acima de 50 kDa) e de baixa massa molar (abaixo de 50 kDa) é influenciado pelas características da membrana, especialmente o valor de retenção nominal (*cut-off*). O perfil de distribuição de massa molar da corrente de retentado mantém a mesma distribuição ao longo do tempo de operação (FIGURA 4.11-b). A corrente de permeado, no entanto, apresenta variação da distribuição de massa molar com o aumento do fator de concentração.

As amostras coletadas no instante do processo ao qual se obtêm a redução de 50 % do volume inicial, equivalente ao fator de concentração  $FC = 2$ , apresentaram distribuição de massa molar inferior a 100 kDa. No entanto, as amostras da corrente de permeado retiradas no momento do processo que se atinge a remoção de 75 % do volume inicial (referente ao  $FC = 4$ ) indicaram perfil de massa molar similar ao da solução inicial, obtida via extração aquosa a 120 °C (FIGURA 4.2).

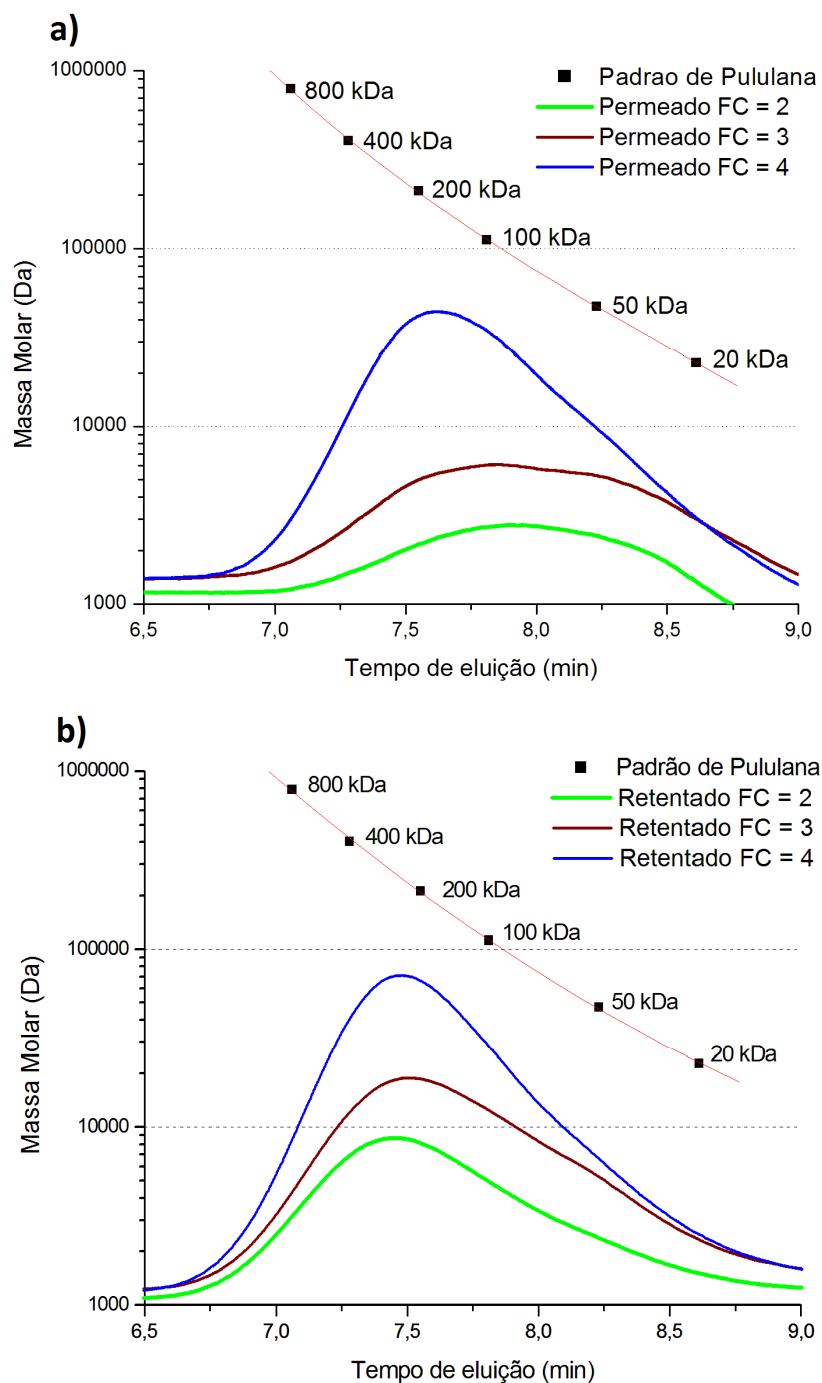


FIGURA 4.11 - EFEITO DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO NO PERFIL DE MASSA MOLAR  
a) CORRENTE DE PERMEADO, b) CORRENTE DE RETENTADO.

Destaca-se que, embora a membrana possua diâmetro de corte médio de 50 kDa, frações maiores que a retenção nominal da membrana conseguem permeá-la ao longo do processo. No início do processo, enquanto os mecanismos resistivos superficiais não estão estabelecidos (camada de polarização e gel precipitado) as moléculas de alta massa molar da proteína permeiam a membrana mediante deformação mecânica da estrutura molecular

pelo interior dos poros da membrana. Esta capacidade de deformação mediante a ação de uma força cisalhante externa é possível em virtude da estrutura predominantemente randômica da sericina, o que permite a acomodação da estrutura molecular em solução sob ação do gradiente de pressão aplicado.

Com a camada de polarização estabilizada e a ação dos diversos mecanismos de *fouling*, a permeação de proteínas de alta massa molar é reduzida. Nessa situação, frações de baixa massa molar com diâmetros inferiores e/ou próximos ao *cut-off* da membrana tendem a permear. À medida que transcorre o processo, menor a concentração de moléculas de baixa massa molar disponíveis para a permeação, ou seja, as frações de alta massa molar tornam-se suscetíveis a permeação pela ação do gradiente mecânico imposto (pressão transmembrana).

Os modos de operação avaliados não contribuíram para o efetivo fracionamento da sericina. A FIGURA 4.12 (a) apresenta o perfil de massa molar da corrente de retentado e permeado do processo em batelada, enquanto a FIGURA 4.12 (b) ilustra a distribuição de massa molar obtido no modo de operação em diafiltração. O fracionamento promovido pelo modo de operação em batelada associada à retrolavagem é igual ao da batelada, haja vista que a adição de solvente nos pulsos de retrolavagem não foi significativa ao ponto de interferir na concentração de sericina presente no tanque de alimentação.

O modo de operação em diafiltração é recomendado nos casos de purificação de determinado soluto, preferencialmente em concentração inferior aos demais compostos presentes no meio, de forma a obtê-lo concentrado na corrente de permeado (DAVIS, 1992). Neste caso, frações de baixa massa molar seriam removidas da solução com a adição contínua de água de forma a obter apenas frações de alta massa molar na solução de alimentação.

Durante o processamento por ultrafiltração em processo descontínuo (no caso da diafiltração e da batelada), à medida que as moléculas de baixa massa molar permeiam, a solução que permanece circulando no sistema se enriquece com moléculas de alta massa molar. Com o decorrer do tempo, somente estas estruturas ficam expostas a separação e, em decorrência da estrutura

predominantemente randômica da sericina, acabam permeando o meio por ação da pressão transmembrana e a capacidade de deformação estrutural.

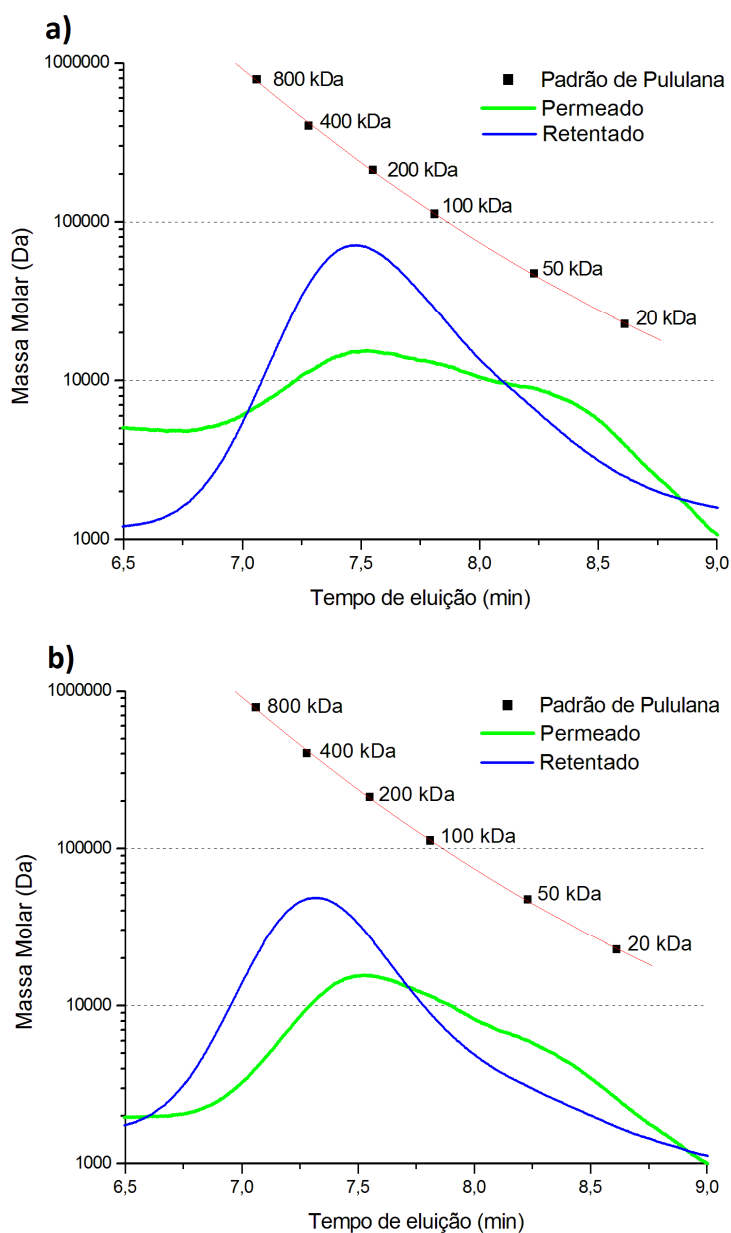


FIGURA 4.12 - DISTRIBUIÇÃO DA MASSA MOLAR OBTIDOS PARA OS MODOS DE BATELADA (a) E DIAFILTRAÇÃO (b).

Portanto, o modo de operação ao qual se submete o tratamento da solução de sericina não influi na qualidade do fracionamento. A qualidade de separação se limita à relação entre as características da solução e da membrana (distribuição de poro, diâmetro nominal e estrutura química).

As condições operacionais avaliadas, em batelada, diafiltração e batelada associada à retrolavagem obtiveram os mesmos perfis de fluxo de

permeado ao longo do tempo, de forma que o fluxo de permeado resultante apresenta-se estatisticamente igual (TABELA 4.11).

A variação verificada no primeiro ciclo (0 – 15 minutos) está associada à permeabilidade hidráulica inicial da membrana (TABELA 4.11). As operações em modo de batelada e batelada associada à retrolavagem comportam-se de forma análoga, portanto a massa de permeado a ser coleta nestes ciclos tende a ser similar.

TABELA 4.11 - ANÁLISE DO DECAIMENTO DO FLUXO DE PERMEADO PARA OS DISTINTOS MODOS DE OPERAÇÃO.

Regimes de Operação	Fluxo Inicial (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> )	Fluxo final (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> )	Permeabilidade Hidráulica – Limpa (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> )	Permeabilidade Hidráulica – Suja (kg m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> )	Grau de Obstrução (%)
Batelada	93,97 ± 0,94 <sup>A</sup>	8,48 ± 0,58 <sup>AB</sup>	170,22 ± 9,22 <sup>A</sup>	9,00 ± 1,12 <sup>B</sup>	94,8
Diafiltração	95,43 ± 1,03 <sup>A</sup>	9,56 ± 0,67 <sup>A</sup>	157,91 ± 17,31 <sup>A</sup>	11,02 ± 5,61 <sup>AB</sup>	92,8
Batelada + Retrolavagem	94,22 ± 3,92 <sup>A</sup>	8,02 ± 0,06 <sup>B</sup>	142,65 ± 21,53 <sup>A</sup>	16,78 ± 3,65 <sup>A</sup>	88,4

Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam médias iguais conforme Teste de Tukey a 5 % de significância.

A variação de massa de permeado coletada no modo de operação em diafiltração pode ser atribuída ao fato de que a adição de solvente diluiu a concentração de sericina na solução de forma que retardou o tempo de formação da camada de polarização. Entretanto, após a estabilização do fluxo, a adição de solvente torna-se indiferente ao fluxo de permeado, conforme as FIGURAS 4.13 e 4.14.

A adição de solvente em reposição à massa de permeado reduz a concentração da solução, porém não promove a redução dos efeitos resistivos. A redução da viscosidade da solução alimentada ao longo do tempo, ocasionada pela adição contínua de água, não foi significativa ao ponto de ocasionar a mudança no regime de escoamento e aumentar o efeito de renovação da superfície.

O processo de retrolavagem permitiu a recuperação parcial de fluxo de permeado. A massa de permeado acumulada durante ciclos de 15 minutos aumenta com a ação da retrolavagem, a qual promove a desestabilização da camada de polarização e camada de gel (TABELA 4.12).

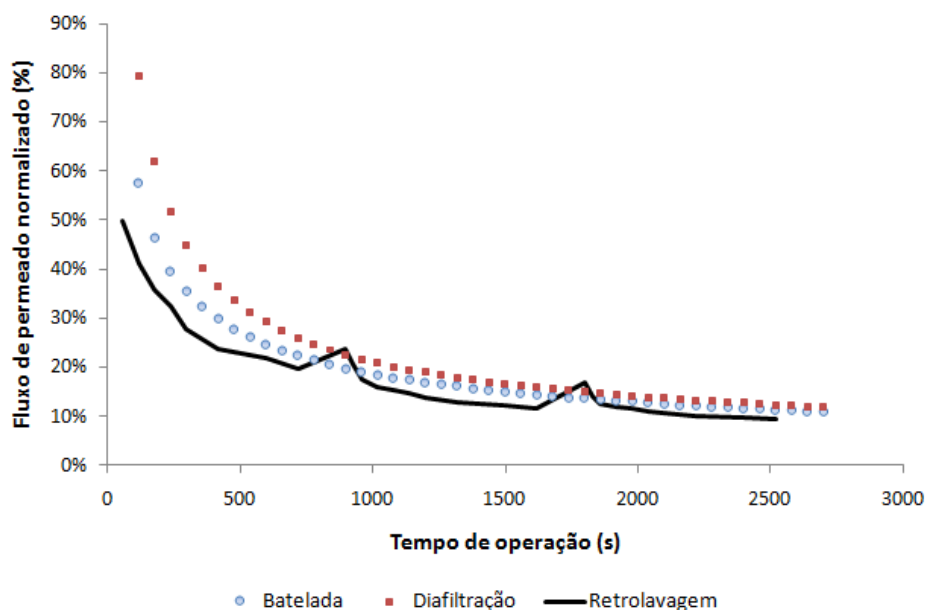


FIGURA 4.13 - FLUXO DE PERMEADO NORMALIZADO AO LONGO DO TEMPO.

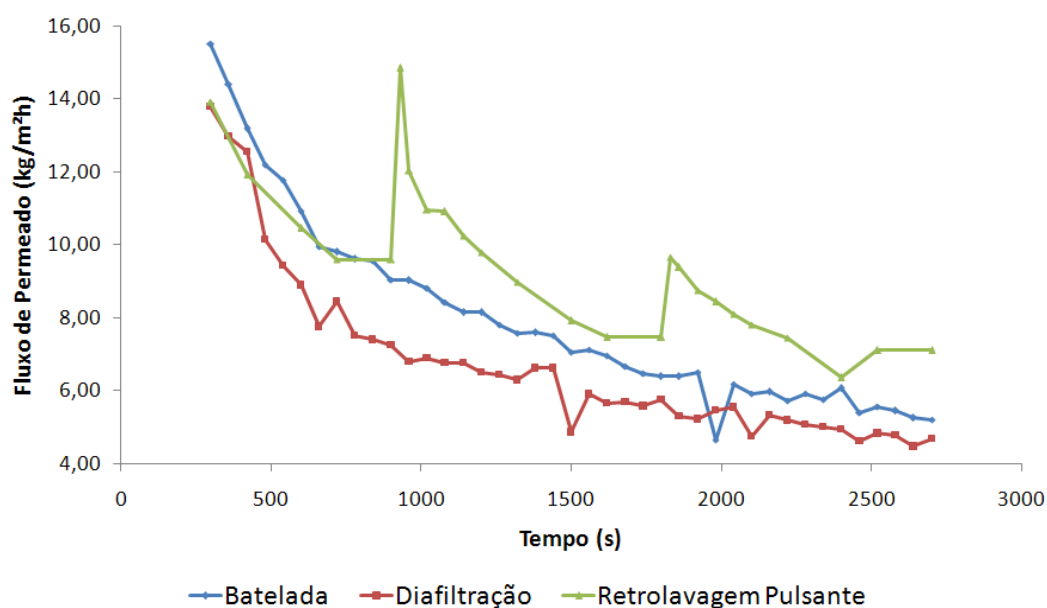


FIGURA 4.14 - FLUXO DE PERMEADO APÓS A ESTABILIZAÇÃO DA CAMADA DE POLARIZAÇÃO.

TABELA 4.12 - MASSA ACUMULADA POR CICLOS DE 15 MINUTOS NOS MODOS DE OPERAÇÃO AVALIADOS.

Tempo de Operação (min)	Batelada (g)	Diafiltração (g)	Batelada + Retrolavagem (g)
15	240,6 ± 9,5 <sup>A a</sup>	276,3 ± 27,9 <sup>A a</sup>	246,5 ± 6,7 <sup>A a</sup>
30	93,2 ± 9,4 <sup>B b</sup>	88,2 ± 12,4 <sup>B b</sup>	135,5 ± 3,0 <sup>B a</sup>
45	69,8 ± 5,9 <sup>C b</sup>	68,4 ± 7,7 <sup>B b</sup>	109,7 ± 3,7 <sup>C a</sup>

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna representam valores de massa acumulada iguais ao longo do tempo, conforme teste de Tukey a 5 % de significância.

Letras minúsculas iguais na mesma linha representam valores de massa acumuladas iguais entre os modos de operação por tempo, conforme teste de Tukey a 5% de significância

GRABRUS e SZANIAWSKA (2009) aplicaram pulsos de retrolavagem durante 60 segundos, a cada 10 minutos de operação durante o processamento de suspensões de levedura por microfiltração com membrana de  $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ . Com o procedimento descrito, foi observado o incremento do fluxo de permeado da ordem de 25 – 55 % em relação ao fluxo de permeado inicial da operação.

A recuperação do fluxo de permeado promovida pela retrolavagem no processamento da sericina após o primeiro e segundo pulsos de retrolavagem foram de 24,6 % e 20,8%, respectivamente. Em comparação com o trabalho citado, embora os procedimentos tenham sido distintos em função do tempo por ciclo, verificou-se que ambos promoveram a recuperação parcial do fluxo.

Destacam-se, para a variabilidade observada, as distintas condições operacionais dos tratamentos (pressões transmembrana, temperatura, velocidade tangencial) e principalmente os mecanismos resistivos envolvidos. O mecanismo resistivo predominante associado ao tratamento de suspensão de leveduras em membrana de microfiltração é o depósito superficial; com pouca interação entre os componentes, de forma que a ação mecânica externa (retrolavagem, efeitos de escoamento tangencial) promove a desestabilização da resistência. Enquanto que no processamento da sericina por ultrafiltração, o efeito de camada de polarização é relevante, além da obstrução interna dos poros e camada de gel superficial, de forma que o mecanismo de retrolavagem não foi efetivo.

#### 4.5.3 Avaliação do perfil do fluxo de permeado em regime de batelada

A FIGURA 4.15 apresenta a variação do fluxo de permeado e do fator de concentração para os processos em batelada, para as soluções contendo concentração de 1,0 e 3,0 g L<sup>-1</sup>. Detecta-se o decaimento abrupto inicial do fluxo, independente da concentração de sericina em solução, com posterior estabilização e decaimento gradual, resultando em fluxos de permeado finais reduzidos na ordem de 90 % em relação ao fluxo inicial.



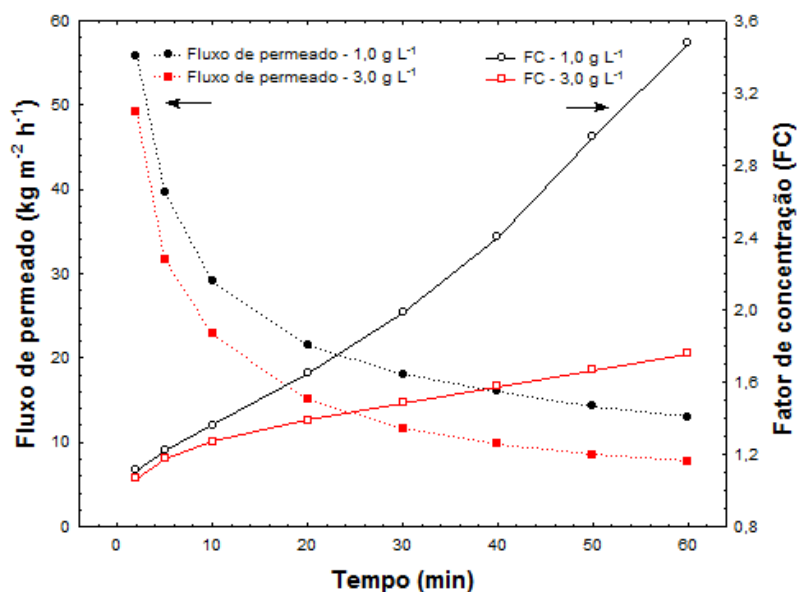


FIGURA 4.15 - PERFIL DE FLUXO DE PERMADO E DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO.

Durante o processo em batelada reduz-se a quantidade de solução que circunda o sistema devido à remoção da corrente de permeado, portanto o fator de concentração tende a aumentar ao longo do tempo. A variação menor observada do *FC* para as soluções com concentração de  $3,0 \text{ g L}^{-1}$  é devido à maior queda do fluxo de permeado ocasionado pela camada de polarização e efeitos de fouling.

O desempenho da separação, em relação à rejeição da sericina pela membrana de polissulfona, é ilustrado na FIGURA 4.16. Os altos valores de coeficiente de rejeição indicam que uma fração reduzida de sericina permeia a membrana. Conforme o perfil de massa molar obtido pela extração a  $120^\circ\text{C}$  em meio aquoso, destacou-se que a composição majoritária era de moléculas com alta massa molar, portanto, a alta retenção obtida com a membrana com retenção nominal de 50 kDa era esperada.

O coeficiente de transmissão, ou transmitância, relaciona a concentração de permeado com a concentração de retentado. Baixos valores de coeficiente de transmissão sugerem que a separação está ocorrendo de forma favorável: baixa permeação do soluto (perdas de proteína pela corrente de permeado são reduzidas) e alta taxa de retorno do soluto para a alimentação (indicando que a deposição e ou acúmulo na superfície é mínimo).

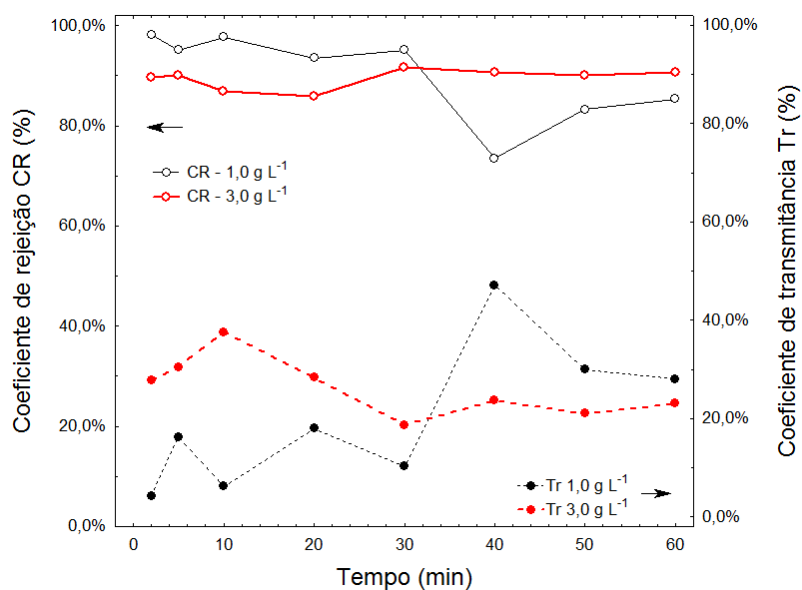


FIGURA 4.16 - VARIAÇÃO DA TRANSMITÂNCIA E DO COEFICIENTE DE REJEIÇÃO

A partir da FIGURA 4.16 nota-se que os valores de transmitância obtidos variam entre 10 a 40 %. Presume-se, portanto, que a sericina que é rejeitada pela membrana não retorna integralmente para a alimentação, mas fica acumulada na membrana (seja por obstrução interna dos poros ou por deposição superficial na forma de gel precipitado), uma vez que a remoção de sericina pela corrente de permeado é pequena.

A TABELA 4.13 apresenta o resumo do comportamento do fluxo de permeado obtido para os processos em batelada. Observa-se que o alto grau de obstrução verificado para o processamento das soluções com distintas concentrações ocasiona um decaimento acentuado do fluxo de permeado.

TABELA 4.13 - ANÁLISE DO DECAIMENTO DO FLUXO.

Fluxo de Permeado (kg /m <sup>2</sup> h)	Solução 1,0 g L <sup>-1</sup>	Solução 3,0 g L <sup>-1</sup>
Fluxo membrana limpa (Jo)	93,18 ± 13,18	93,97 ± 0,94
Fluxo estacionário (Jp)	13,04 ± 0,58	8,47 ± 0,58
Fluxo c/ água após o processo de retrolavagem (Js)	63,27 ± 8,92	15,07 ± 1,56
Decaimento do fluxo (%)	86,0	94,8
Resistência intrínseca a membrana – $R_M$ (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> x 10 <sup>-9</sup> )	2,30	2,30
Resistência devido ao <i>fouling</i> – $R_F$ (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> x 10 <sup>-9</sup> )	0,95	5,53
Resistência devido à polarização – $R_P$ (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> x 10 <sup>-9</sup> )	6,09	6,44
Resistência Total (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> x 10 <sup>-9</sup> )	9,34	14,38

A partir da estimativa das resistências constituintes do processo, observa-se que o processamento das soluções de 1,0 e 3,0 g L<sup>-1</sup> resultam em valores de resistência à permeação de  $9,34 \times 10^9$  e  $14,38 \times 10^9$  m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>, respectivamente. O aumento da concentração ocasionou uma queda do fluxo de permeado (conforme ilustrado na FIGURA 4.15 e registrado na TABELA 4.13).

A resistência intrínseca à membrana é caracterizada no início dos ensaios, de forma que este valor foi considerado constante, após a compactação da mesma pela ação da pressão transmembrana com água microfiltrada.

O efeito resistivo ao *Fouling* está diretamente relacionado com a concentração de sericina processada. A solução com concentração de sericina de 1,0 g L<sup>-1</sup> apresentou uma contribuição estimada para resistência devido ao *Fouling* de 10,2 % do montante total, enquanto que o fator resistivo devido à Polarização foi de 65,2 % do total.

Para a concentração avaliada, presume-se que o efeito de selamento de poros superficiais e internos, mecanismos avaliados pela resistência devido ao *Fouling*, foi limitado pela baixa concentração da solução. A sericina presente na solução atuou predominantemente para a formação da camada de polarização adjacente à superfície da membrana e a camada de gel precipitada, mecanismos resistivos da resistência por polarização que são formados no início dos processos de filtração tangencial (SILVA; HAMERSKI; SCHEER, 2012). Em concordância com o acima avaliado, destaca-se o resultado obtido para recuperação do fluxo obtida pela ação mecânica da retrolavagem (limpeza mecânica), que permitiu a obtenção de fluxos de permeado da ordem de 63,27 kg m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> com recuperação do fluxo inicial de 67,9 %.

Para a solução com concentração de 3,0 g L<sup>-1</sup>, verificou-se que o valor da resistência por polarização foi de  $6,44 \times 10^9$  m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>, similar ao obtido para a solução de sericina com concentração de 1,0 g L<sup>-1</sup> de  $6,09 \times 10^9$  m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>. No entanto a estimativa da resistência devido ao *Fouling* foi da ordem de  $5,53 \times 10^9$  m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>, contribuição equivalente a 38,8 % da resistência total à permeação.

Presume-se que a massa de sericina presente na solução possibilitou a consolidação da resistência por polarização, e com o decorrer do tempo de processo, o excesso de proteína foi ocasionando o selamento dos poros,

acrescendo a resistência total do fluxo por decorrência da formação do *fouling*. O resultado obtido para recuperação do fluxo obtida pela ação mecânica da retrolavagem (limpeza mecânica) foi de  $15,07 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$  com recuperação do fluxo inicial de apenas 16,01 %.

Conforme reporta HABERT, BORGES e NOBREGA (2006), os processos de recuperação de fluxo para sistemas expostos às ações severas de *fouling* necessitam tratamentos complementares aos procedimentos de limpeza superficial co-corrente, tais como os tratamentos químicos combinados às ações mecânicas (retrolavagem e /ou ultrassom).

A partir da TABELAS 4.14 e 4.15, pode-se verificar o ajuste dos modelos de bloqueio de poros para o processamento das soluções contendo sericina nas concentrações de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. A sericina, por possuir uma distribuição de massa molar entre 20 kDa a 400 kDa, pode apresentar distintos mecanismos de obstrução, tanto de selamento interno quanto de bloqueio superficial e formação da camada de gel precipitada. O ajuste dos modelos de bloqueio quanto aos dados experimentais segue ilustrado na FIGURA 4.17.

O modelo de bloqueio interno presume que as moléculas possuem diâmetro nominal inferior à retenção nominal da membrana, ocasionando o selamento interno dos poros. Como a solução processada possui distribuição de massa molar da ordem de 20 kDa a 400 kDa, com predominância entre 100 kDa a 200 kDa, o selamento interno não representa o mecanismo predominante.

O modelo de bloqueio superficial ( $n = 2,0$ ), por sua vez, considera que as moléculas possuem tamanho nominal superior à retenção nominal da membrana, de forma a ficarem todas retidas na superfície da membrana. De forma análoga, como a solução possui uma distribuição de massa molar com frações de diâmetro nominal inferior ao *cut-off* da membrana, há a passagem de sericina pelo meio poroso, que pode ocasionar mecanismos distintos ao superficial, além da própria capacidade da sericina em deformar-se mediante ação de força externa, de forma a permear a membrana, mesmo com tamanho nominal maior que a membrana.

TABELA 4.14 - ANÁLISE DO FLUXO DE PERMEADO: MODELO DO BLOQUEIO DE POROS – 1,0 g L<sup>-1</sup>

Parâmetros	Bloqueio		Bloqueio		Torta Filtrante
	Superficial n = 2,0	Interno n = 1,5	Parcial n = 1,0		n = 0
Kn	2,82 10 <sup>-3</sup>	2,82 10 <sup>-3</sup>	0,207		16,31
Jo (kg/m <sup>2</sup> h)	80,68	52,28	93,71		102,42
J <sub>LIM</sub> (kg/m <sup>2</sup> h)	13,04	-	13,04		13,04
SQR	3,7 10 <sup>-5</sup>	2,57 10 <sup>-4</sup>	2,59 10 <sup>-5</sup>		1,50 10 <sup>-5</sup>
EM	2,63	3,67	1,19		1,71
S	1,33 10 <sup>-3</sup>	3,50 10 <sup>-3</sup>	1,11 10 <sup>-3</sup>		8,40 10 <sup>-4</sup>

TABELA 4.15 - ANÁLISE DO FLUXO DE PERMEADO: MODELO DO BLOQUEIO DE POROS – 3,0 g L<sup>-1</sup>

Parâmetros	Bloqueio		Bloqueio		Torta Filtrante
	Superficial n = 2,0	Interno n = 1,5	Parcial n = 1,0		n = 0
Kn	4,34 10 <sup>-3</sup>	1,70 10 <sup>-2</sup>	0,319		20,50
Jo (kg/m <sup>2</sup> h)	91,85	106,02	80,42		118,08
J <sub>LIM</sub> (kg/m <sup>2</sup> h)	8,47	-	8,47		8,47
SQR	4,38 10 <sup>-5</sup>	9,50 10 <sup>-4</sup>	8,17 10 <sup>-5</sup>		2,35 10 <sup>-5</sup>
EM	3,93	8,87	1,77		4,79
s	1,44 10 <sup>-3</sup>	2,13 10 <sup>-3</sup>	1,97 10 <sup>-3</sup>		1,06 10 <sup>-3</sup>

A solução contendo concentração de sericina de 1,0 g L<sup>-1</sup> apresentou um comportamento melhor ajustado pelos modelos de bloqueio parcial (n = 1,0) e da torta filtrante (n = 0) com erro médio da ordem de 1,19 e 1,71 respectivamente, enquanto para a solução contendo concentração de 3,0 g L<sup>-1</sup>, o modelo de melhor ajuste foi o do bloqueio parcial (n = 1,0).

Conforme previamente discutido quanto aos mecanismos resistivos, o perfil de fluxo de permeado obtido para as soluções avaliadas apresenta um decaimento acentuado em relação ao fluxo obtido com a membrana limpa, sendo no início definido pela resistência devido à polarização de concentração.

Na FIGURA 4.17 observa-se que o modelo da Torta Filtrante (n = 0) possui um ajuste mais próximo aos valores experimentais por considerar a forma da torta superficial (neste caso, a camada de gel superficial). Os efeitos de selamento interno da membrana são menos pronunciados, o que favorece o ajuste do modelo aos dados experimentais. O modelo de bloqueio parcial, por considerar tanto a obstrução superficial quanto o bloqueio interno, consegue um ajuste mais próximo ao mecanismo real que ocorre no processamento da sericina.

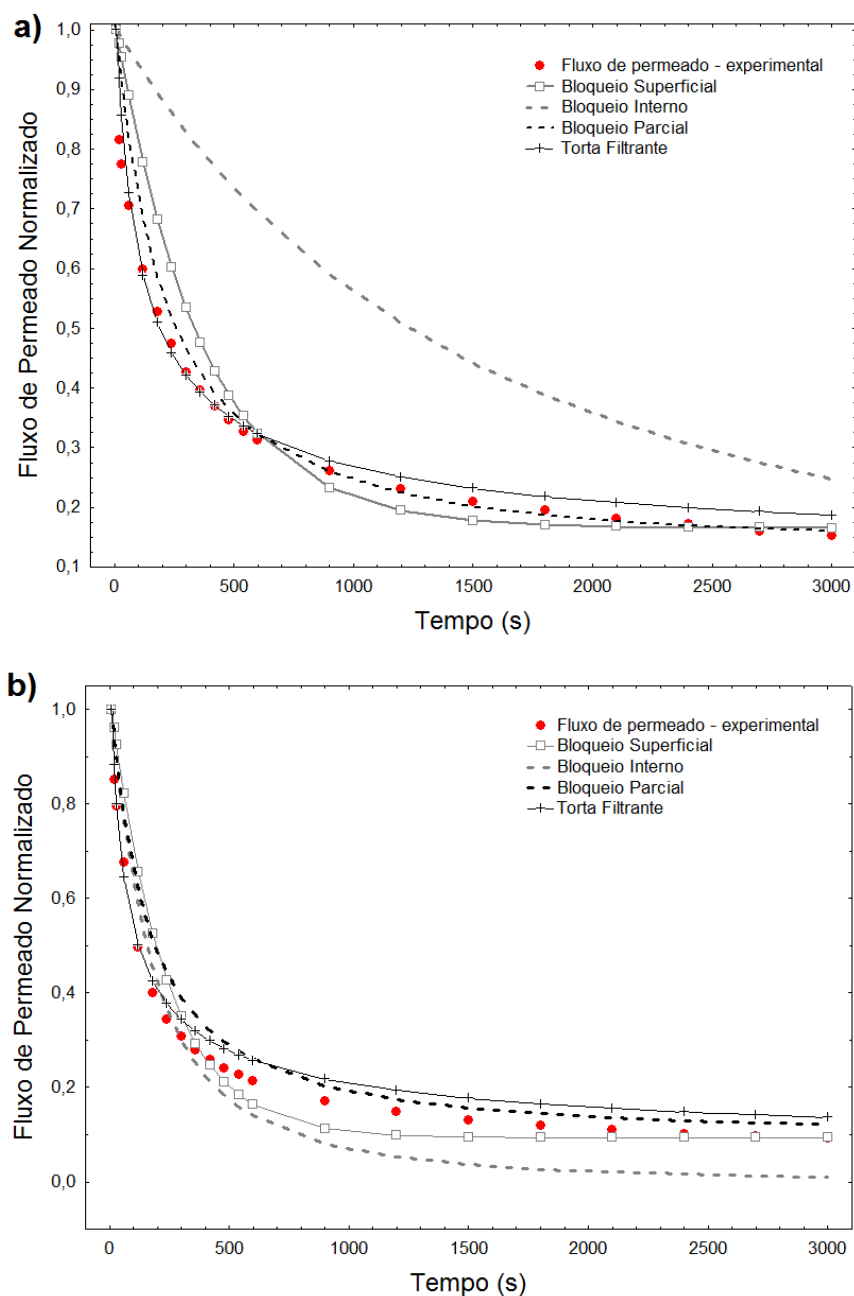


FIGURA 4.17 - AJUSTE DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS. A) 1,0 g L<sup>-1</sup> B) 3,0 g L<sup>-1</sup>

Para solução contendo concentração de sericina de 3,0 g L<sup>-1</sup>, os mecanismos de *Fouling* e de polarização são relevantes, de forma que o modelo de bloqueio parcial é o que tende a ajustar de forma mais próxima ao comportamento dinâmico observado pelos dados experimentais; uma vez que tanto os mecanismos superficiais quanto às obstruções internas interferem no fluxo de permeado.

#### 4.5.4 Estimativa da perda de massa durante o processo em batelada

Foram estimadas as perdas de massa de sericina removida na corrente de permeado e retida na membrana, por meio das equações de balanço de massa (descritas no item 3.2.2.4.) para a operação em modo de batelada das soluções contendo concentração de sericina de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ .

A partir dos dados experimentais obtidos foram ajustados modelos empíricos polinomiais para correlacionar a concentração de sericina na corrente de retentado em função da vazão de permeado (FIGURA 4.18). Observa-se que a correlação entre os fatores possui boa concordância, com coeficientes de determinação ( $r^2$ ) de 97,3 % e de 96,6 %, de forma que pode ser estimada a concentração de sericina nas correntes de retentado em função da vazão de permeado. Estes modelos são puramente matemáticos, com finalidade apenas de fornecer uma equação algébrica para a resolução do sistema de equações que estimam a perda de massa de sericina durante a operação.

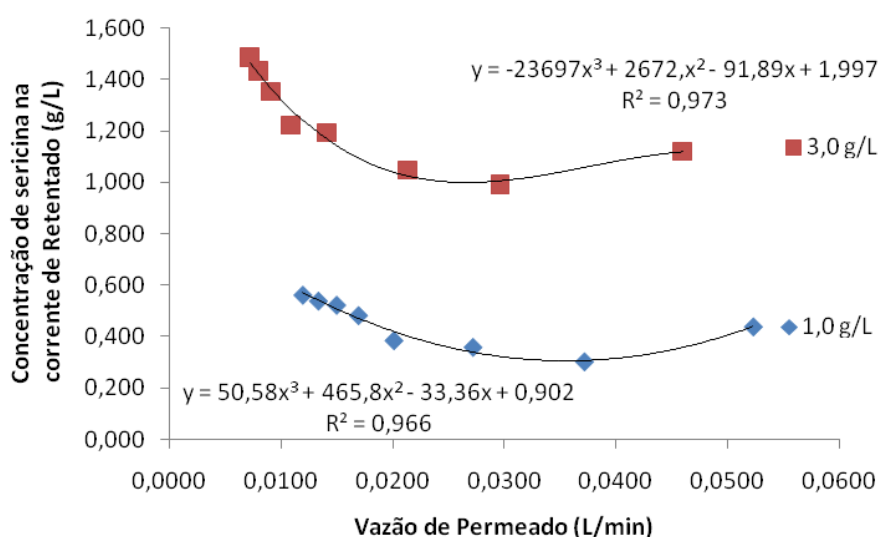


FIGURA 4.18 - CORRELAÇÃO EMPÍRICA ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE SERICINA NO RETENTADO E A VAZÃO DE PERMEADO

A FIGURA 4.19 apresenta o perfil da massa de sericina acumulada na membrana, no permeado e a solução que circula na membrana ao longo do tempo, enquanto a FIGURA 4.20 ilustra a variação das concentrações de sericina na corrente de retentado e da alimentação ao longo do tempo.

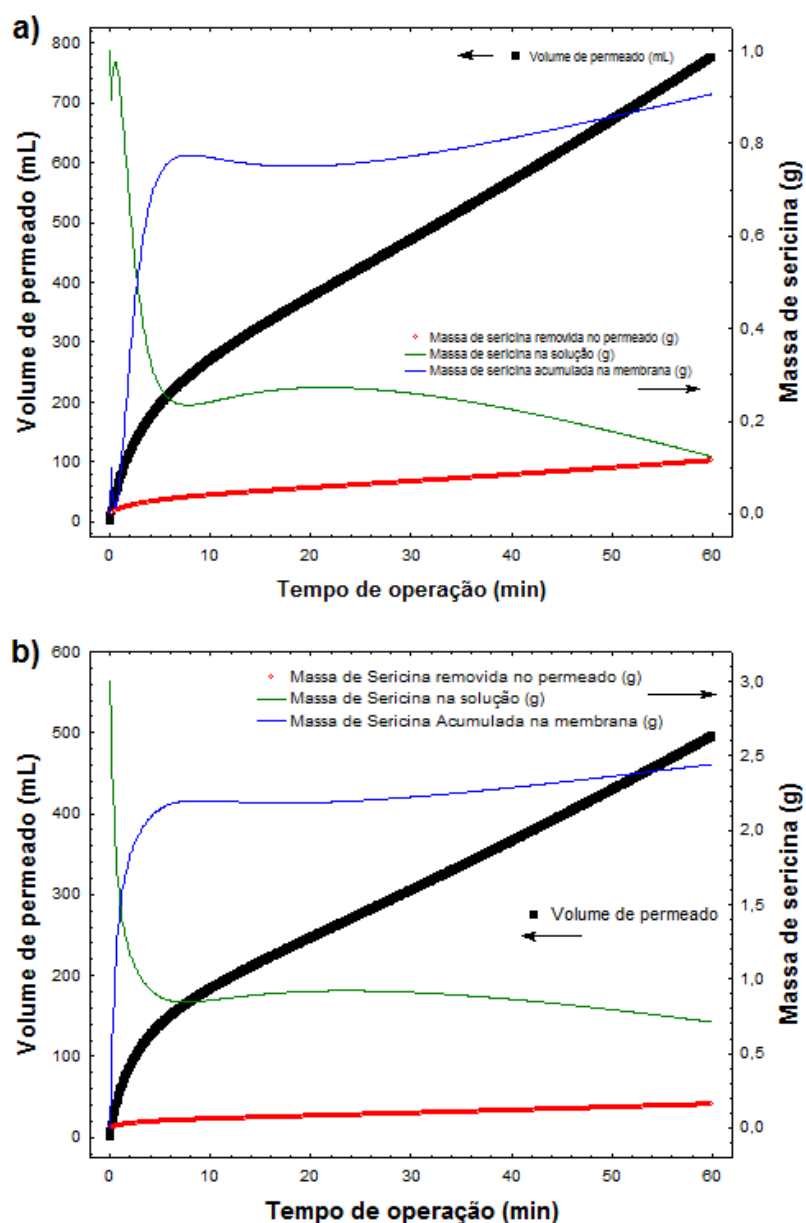


FIGURA 4.19 - VARIAÇÃO DA MASSA DE SERICINA AO LONGO DO TEMPO.  
a) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ; b) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ .

A partir dos perfis ilustrados nas FIGURAS 4.19 e 4.20 evidencia-se que a perda de sericina durante o processo de fracionamento é extremamente relevante, da ordem de 78,8 % e 81,4 % para as soluções contendo a concentração de sericina de  $1,0$  e  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, de acordo com os valores estimados pelo modelo proposto no tópico 3.2.2.4. A queda brusca da concentração de sericina na corrente de alimentação (FIGURA 4.20) contrasta com crescimento acelerado da massa retida na superfície (FIGURA 4.19) no instante inicial do processo (entre 0 a 10 minutos), caracterizando o tempo de estabilização da camada de polarização.



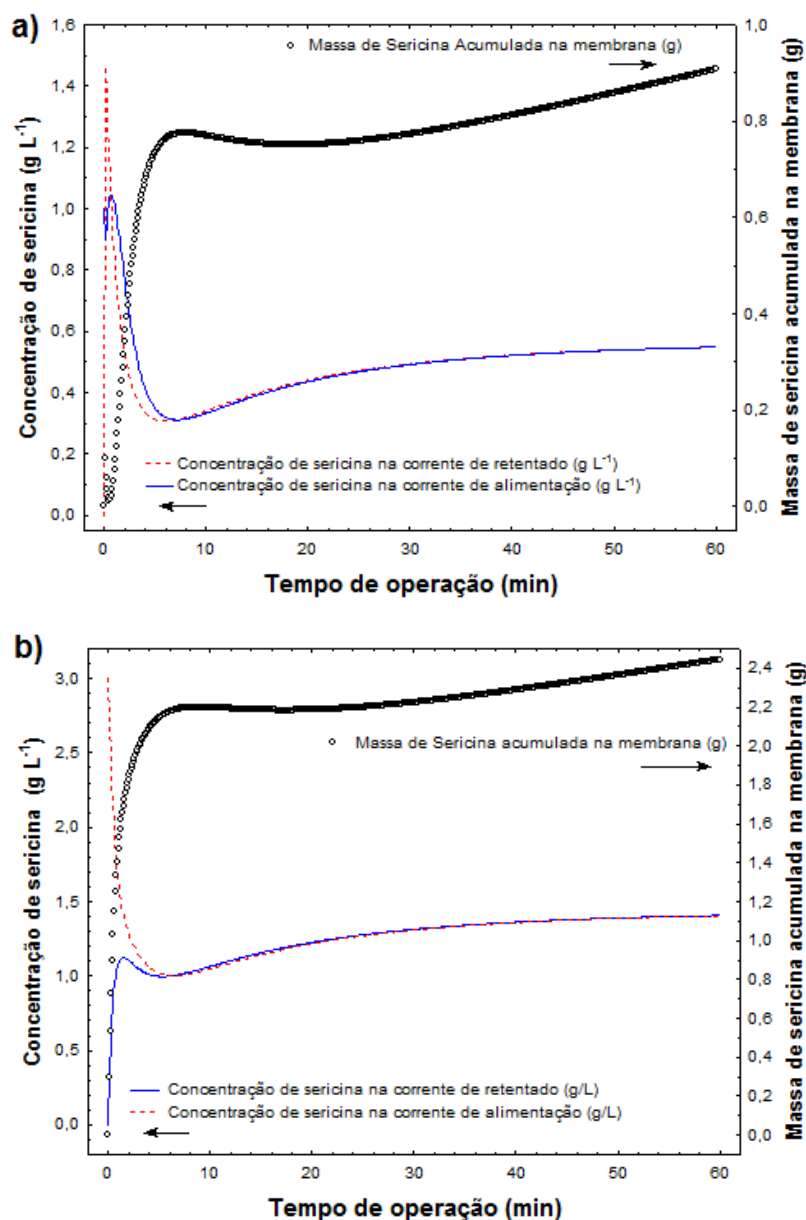


FIGURA 4.20 - VARIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SERICINA NAS CORRENTES DE RETENTADO E ALIMENTAÇÃO.

a) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 1,0 g L<sup>-1</sup>; b) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 3,0 g L<sup>-1</sup>

A corrente de retentado inicia com valores pequenos em decorrência do predomínio da deposição da proteína na membrana, sofrendo um incremento imediato pela ação do efeito de renovação, de forma a compensar o efeito da retenção de proteínas na superfície. De forma análoga, é no período inicial que se obtém a maior taxa de volume de permeado, uma vez que os efeitos resistivos ainda não estão consolidados.

Quando as forças envolvidas atingem o equilíbrio, a perda de massa estabiliza, assim como os valores de concentração de sericina nas correntes de

alimentação e retentado tendem a valores equivalentes. A perda de sericina no transcorrer do processo ocorre de forma lenta e gradual pela ação predominante do *Fouling*.

No estudo desenvolvido por SILVA, HAMERSKI e SCHEER (2012), soluções aquosas de pectina com concentração de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  foram concentradas em sistema de microfiltração com membrana cerâmica tubular de  $0,44 \mu\text{m}$ . As perdas de massa do processamento da solução aquosa de pectina foram da ordem de 14 %; enquanto no presente trabalho, os valores de perdas de sericina foram de 78,8 % para concentração equivalente de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ .

No estudo citado o mecanismo dominante foi atribuído ao *fouling*, tendo a camada de polarização minimizada pelo efeito do escoamento superficial (número de Reynolds da ordem de 5.400). No entanto, no processamento da sericina por ultrafiltração o efeito da polarização por concentração e a precipitação da sericina em gel são os mecanismos dominantes e, somado às condições de escoamento laminar ( $Re = 73,7$ ), há uma minimização dos efeitos de renovação, favorecendo o acúmulo de sericina na superfície.

A TABELA 4.16 apresenta os valores estimados e experimentais obtidos ao final da operação para a massa de sericina acumulada na superfície da membrana, volume de permeado coletado e a concentração de sericina para a solução retida no tanque de alimentação. Os desvios observados podem ser visualizados ao longo no tempo nos gráficos comparativos entre os valores simulados e os experimentais para o volume de permeado acumulado (FIGURA 4.21) e da sericina acumulada na membrana (FIGURA 4.22).

TABELA 4.16 - VALORES ESTIMADOS PARA O VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO E MASSA DE SERICINA ACUMULADA NA MEMBRANA AO FIM DO PROCESSO.

Dados	Solução $1,0 \text{ g L}^{-1}$		Solução $3,0 \text{ g L}^{-1}$	
	Volume de permeado (mL)	Sericina acumulada na membrana (g)	Volume de permeado (mL)	Sericina acumulada na membrana (g)
Experimental	712,26	0,788	431,40	2,059
Simulação	775,31	0,909	494,76	2,444
Desvio (%)	8,85	15,32	14,69	18,73

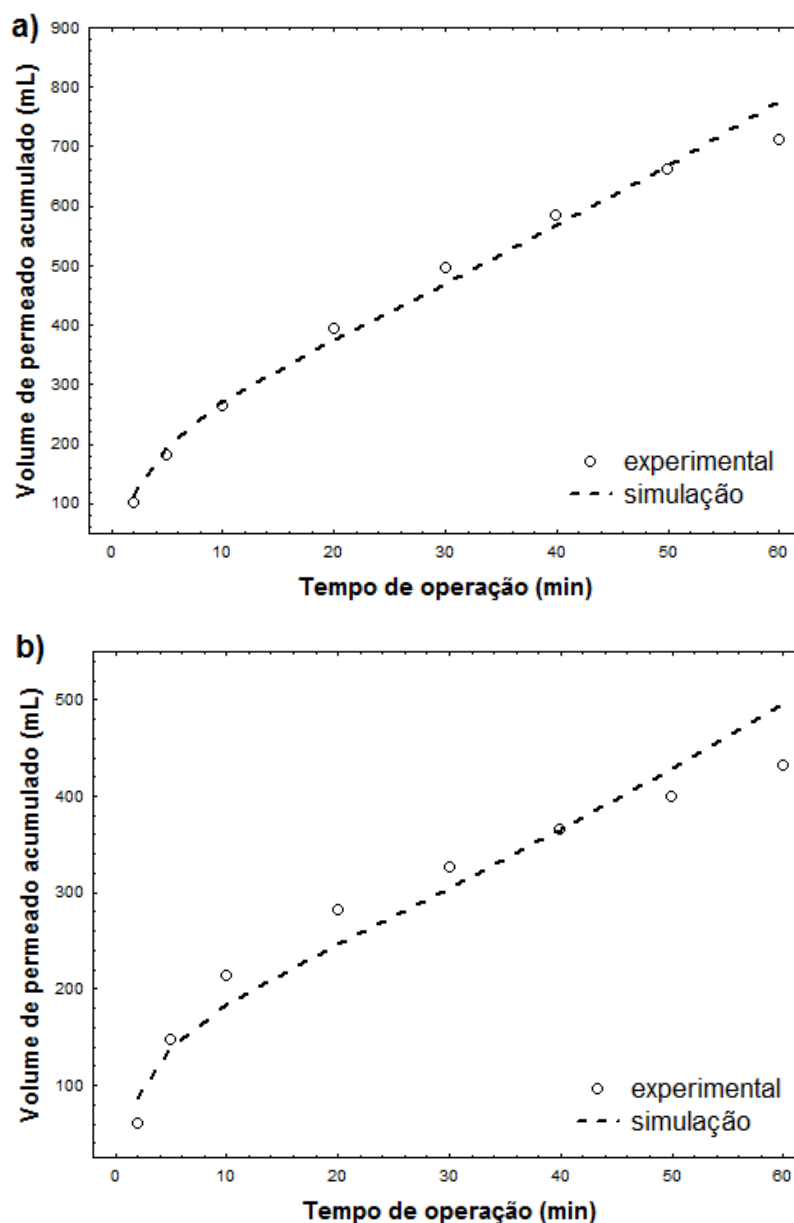


FIGURA 4.21 - ESTIMATIVA DO VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO  
a) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 1,0 g L<sup>-1</sup>; b) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 3,0 g L<sup>-1</sup>

As discrepâncias entre os valores observados experimentais e simulados se devem em virtude da hipótese adotada do fluxo de permeado comportar-se conforme o modelo de bloqueio de poros parcial. Este modelo, embora apresente boa concordância na descrição dos valores de fluxo de permeado, carrega desvios ao longo do tempo que, somados, ocasionam as discrepâncias nos valores preditos pelos balanços de massa nos volumes de controle definidos para a membrana e o tanque e as perdas de massa acumuladas.

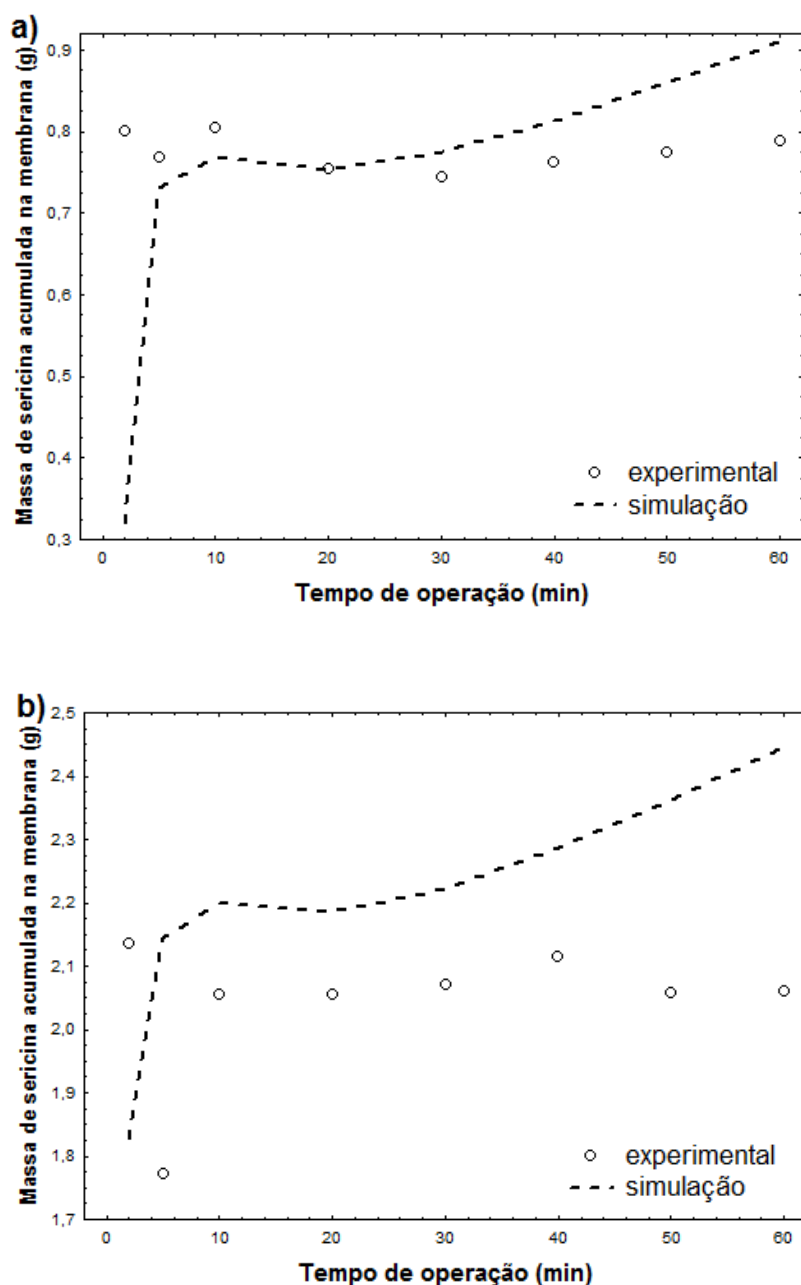


FIGURA 4.22 - ESTIMATIVA DA MASSA DE SERICINA ACUMULADA NA MEMBRANA  
a) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 1,0 g L<sup>-1</sup>; b) CONCENTRAÇÃO INICIAL DE 3,0 g L<sup>-1</sup>

Portanto, embora o fracionamento das soluções de sericina em alta massa molar tenha se apresentado eficiente e com altos valores de coeficiente de rejeição; as perdas de sericina com o sistema de ultrafiltração estudado são relevantes de forma que, para o propósito de fracionamento, não são tecnologicamente viáveis nas condições operacionais estudadas.

## 4.6 BIOSSORÇÃO

### 4.6.1 Obtenção da sericina em pó

As soluções congeladas contendo sericina obtidas por extração aquosa a 120 °C foram submetidas a descongelamento a temperatura ambiente (20 °C) e a temperatura de 70 °C, controlada em banho de aquecimento durante uma hora. A FIGURA 4.23 ilustra a forma física da amostra de solução aquosa contendo sericina congelada (FIGURA 4.23-c), soluções descongeladas a temperatura ambiente (FIGURA 4.23-c) e descongelamento em banho de aquecimento a temperatura de 70 °C.

A amostra descongelada sob temperatura de 70 °C apresentou a precipitação das cadeias de sericina sem a agregação na forma de gel, enquanto a amostra descongelada com a temperatura a 20 °C permitiu a agregação da sericina precipitada, formando gel na superfície. O processo de congelamento efetua a cristalização da água, que está ligada às moléculas de sericina, promovendo a sua precipitação. Este processo desestabiliza as estruturas secundárias e terciárias da proteína.

O processo de descongelamento disponibiliza novamente água livre para a proteína se reagrupar. Conforme apresenta SGARBIERI (1996), a reabsorção de água não é completa, já que a proteína sofreu mudanças conformacionais durante o congelamento. Presume-se que a precipitação ocasionada no processo de descongelamento a 70 °C tenha ocorrido por decorrência da energia fornecida para o degelo, energia tal que não permitiu o estabelecimento das pontes de hidrogênio entre os sítios hidrofílicos da sericina e a água no estado líquido. O excesso de energia promoveu a desnaturação e desagregação da rede, enquanto que o descongelamento a temperatura ambiente permitiu a gelificação parcial da sericina.

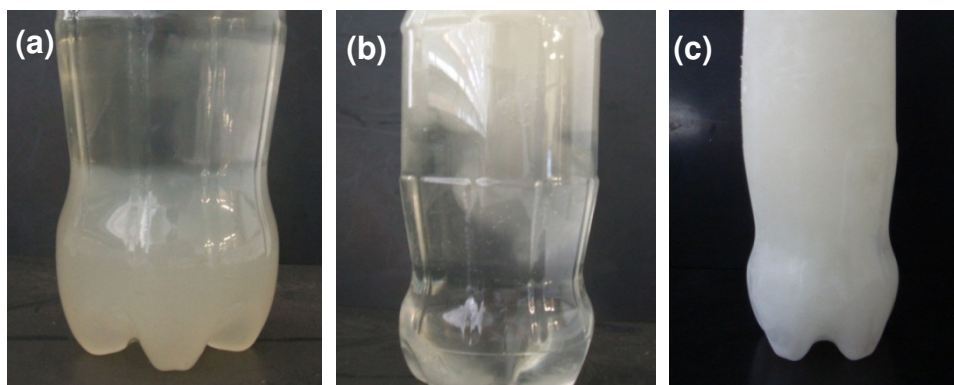


FIGURA 4.23 - FRACIONAMENTO DAS SOLUÇÕES MEDIANTE DESCONGELAMENTO  
a) A 70 °C; b) A 20 °C; c) AMOSTRA CONGELADA.

O processo de descongelamento promoveu a desnaturação parcial da sericina (FIGURA 4.23), no entanto, uma parcela da sericina mantém-se solúvel no meio. A solução aquosa obtida após o descongelamento foi submetida à análise de distribuição de massa molar, de forma a averiguar se frações distintas poderiam ter sido solubilizadas na porção líquida da água, durante o processo.

A FIGURA 4.24 ilustra o perfil de distribuição de massa molar da porção líquida presente nas amostras descongeladas a 20 °C e a 70 °C. O perfil apresenta a mesma distribuição de massa molar, entretanto a maior concentração de proteína observada na fração aquosa foi a 70 °C. Como técnica de fracionamento, a fração aquosa ainda carrega as frações menores, entretanto a porção mais significativa consiste nas frações de alta massa molar, da ordem de 200 kDa.

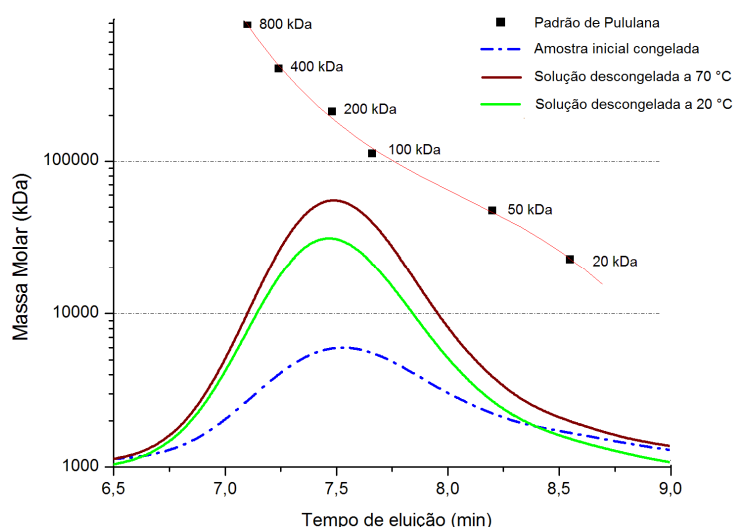


FIGURA 4.24 - DISTRIBUIÇÃO DE MASSA MOLAR PARA AS AMOSTRAS FRACIONADAS POR DESCONGELAMENTO.

A FIGURA 4.25-a apresenta o espectro de infravermelho da amostra de sericina em pó obtida mediante processos de congelamento da solução e posterior liofilização. Em comparação com o resultado observado no estudo realizado por CHEN *et al.* (2011) verifica-se que os espectros são similares, com picos característicos em 3298, 2930, 1646 e 1239  $\text{cm}^{-1}$ .

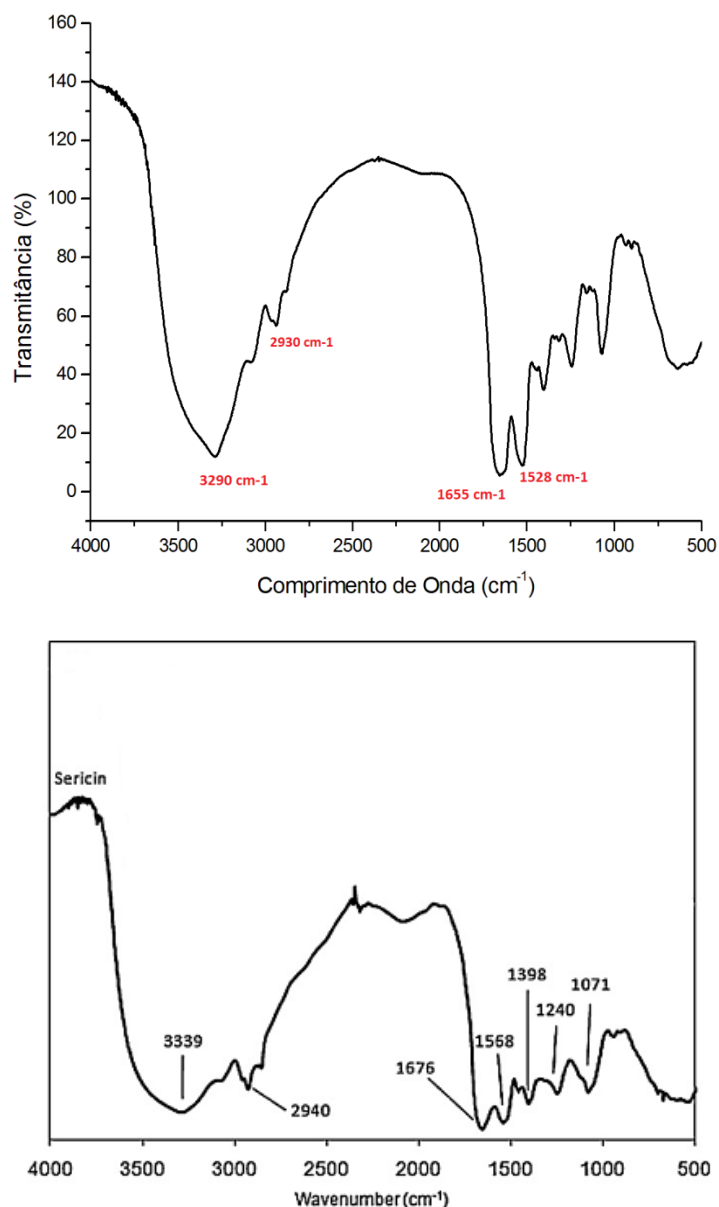


FIGURA 4.25 - ANÁLISE DE FTIR DA AMOSTRA DE SERICINA EM PÓ  
a) LIOFILIZADA, b) REFERÊNCIA (FONTE: ADAPTADO DE CHEN *et al.*, 2011)

Conforme GULJARANI *et al.* (2008), grupos de Amida A, B, I e II possuem bandas de absorção em picos no entorno dos comprimentos de onda de 3298, 2930, 1646 e 1239  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, identificados em ambos os espectros presentes na FIGURA 4.25 (a) - (b).

A presença de picos na faixa de comprimento de onda de  $1600\text{ cm}^{-1}$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$  pode ser utilizada para verificar a presença de distintas conformações quanto aos grupos amida I (TERAMOTO; MIYAZAUA, 2005). A partir da estimativa da derivada segunda dos valores de transmitância no intervalo de comprimento de onda de  $1600\text{ cm}^{-1}$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$  (FIGURA 4.26) percebe-se a presença de picos em  $1631$ ,  $1646$  e  $1694\text{ cm}^{-1}$ , característicos da presença de estruturas do tipo: folha- $\beta$ , randômica e folha- $\beta$  antiparalela (TERAMOTO; MIYAZAUA, 2005).

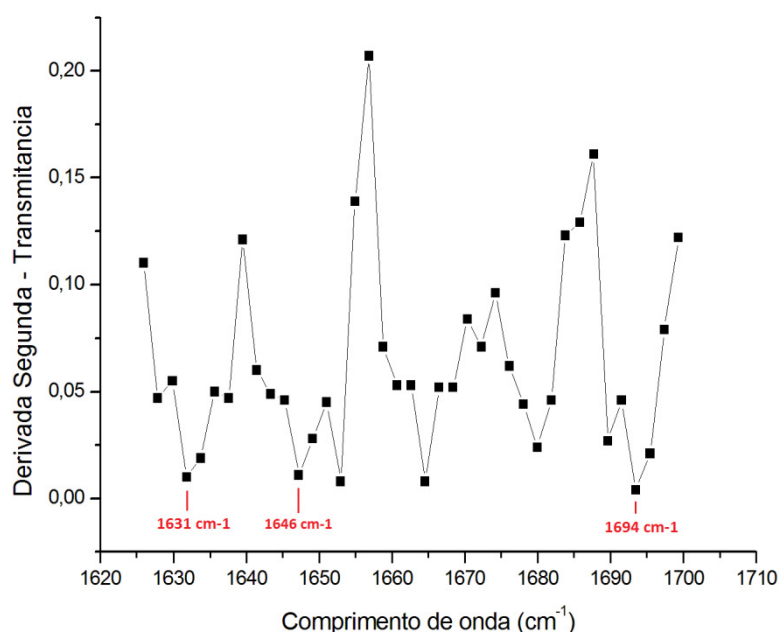


FIGURA 4.26 - DERIVADA SEGUNDA DO ESPECTRO DE FTIR DA SERICINA EM PÓ OBTIDA PELO DESCONGELAMENTO E LIOFILIZADA.

A análise de difração de raios-X da amostra de sericina segue ilustrada na FIGURA 4.27. O perfil de distribuição de difração de raio-X foi similar ao verificado por DASH *et al.* (2008) e por TOMADON Jr. (2011), no qual observa-se um crescimento agudo no pico característico entre os ângulos de difração  $19,2^\circ$  e  $23,2^\circ$ , caracterizando a presença de regiões cristalinas compatível à estrutura cristalina folha- $\beta$ .



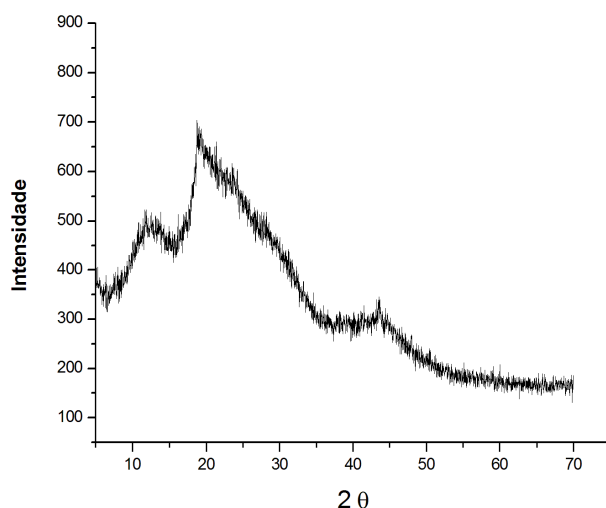


FIGURA 4.27 - DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DA SERICINA CONGELADA E LIOFILIZADA.

A morfologia da amostra de sericina obtida pelo processo proposto, e comparativamente com a fibroína retida no processo de extração pode ser visualizada na FIGURA 4.28, enquanto a TABELA 4.16 apresenta os parâmetros de textura (área superficial e volume de poros).

TABELA 4.17 - CARACTERÍSTICAS TEXTURAIS DA SERICINA EM PÓ E DA FIBROÍNA OBTIDAS MEDIANTE EXTRAÇÃO AQUOSA A 120 °C.

Características	Sericina	Fibroína
Área Superficial BET ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	18,52	120,10
Diâmetro médio de poros (Å)	16,21	16,22
Volume de poro ( $\text{cm}^3 \text{g}^{-1} \times 10^2$ )	0,02042	0,1390

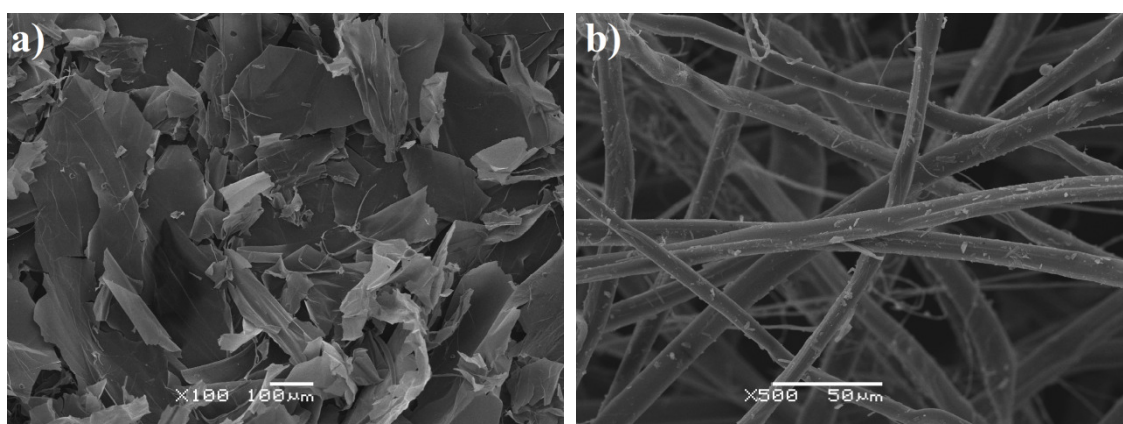


FIGURA 4.28 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA  
a) SERICINA DE ALTA MASSA MOLAR, b) FIBROÍNA

A sericina obtida mediante o processo de congelamento e liofilização produziu partículas em forma de escamas, com superfície lisa e irregular, sem a presença de vazios ou poros. Em contraste, a FIGURA 4.28-b ilustra os fios de fibroína obtidas pelo processo de extração aquosa a 120 °C, no qual a estrutura fibrilar mantém-se presente em conjunto com os vazios presentes entre as fibras caracterizando poros do material. A superfície da fibroína é regular e homogênea, sem a presença de poros aparentes.

A área superficial obtida para a sericina de alta massa molar foi de 18,52 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. No estudo desenvolvido por CHEN *et al.* (2011), utilizou-se sericina comercial hidrolisada (oriunda de processos de degomagem tradicionais) para bioissorção de ouro e paládio, com morfologia similar à ilustrada na FIGURA 4.28, contendo área superficial de 1,5 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Os valores distintos de área superficial entre as amostras podem ser atribuídos à diferença de massa molar entre as amostras, de forma que sericina com alta massa molar obtida por extração aquosa confere ao bioissorvente um aumento de área superficial e preservado características funcionais originais à proteína.

A área superficial da fibroína, da ordem de 120,1 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, associada ao volume de poro de 0,1390 10<sup>-2</sup> cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> indicam a presença de mesoporos, haja visto que a sericina (agente de adesão entre as fibras) encontra-se em concentração diminuta, gerando vacâncias entre os filamentos de fibroína, ocasionando o aumento da área superficial disponível para bioissorção.

#### 4.6.2 Bioissorção do corante sintético Bordeaux S

Inicialmente foram avaliados os efeitos do pH da solução na taxa de bioissorção do corante Bordeaux S. O volume de 30 mL de uma solução com concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> do corante, a distintos valores de pH, foram adicionadas ao montante de 30 mg de sericina. O desempenho obtido nestes ensaios é ilustrado na FIGURA 4.29.

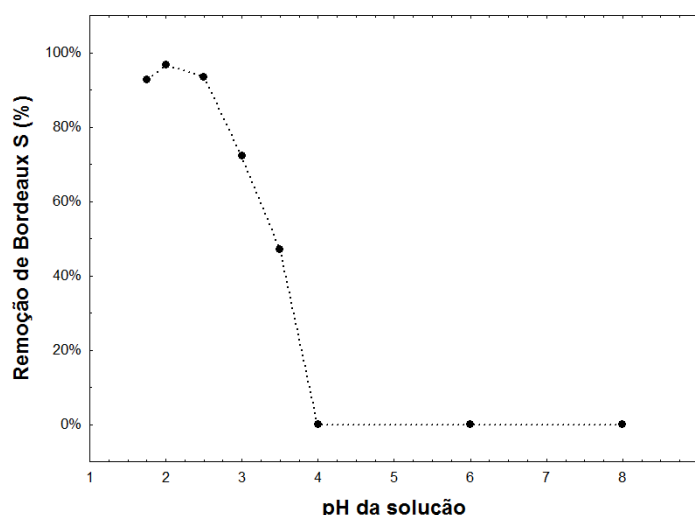


FIGURA 4.29 - EFEITO DO pH NA CAPACIDADE DE BIOSSORÇÃO DA SERICINA EM RELAÇÃO AO CORANTE BORDEUAX S.

Destaca-se que, em pH superiores ao valor de 3,5, a taxa de bioadsorção é nula, enquanto em valores de pH entre 1,75 e 2,5, a massa adsorvida é da ordem de  $195 \text{ mg g}^{-1}$ . MITTAL, KURUP e GUPTA (2005) verificaram que a adsorção do corante Bordeaux S por meio de farelo de soja foi possível apenas para valores de pH menores que 3,0.

O efeito do pH está associado com a carga líquida potencial presente na superfície da proteína. A sericina possui composição variada de aminoácidos (TABELA 4.6), contendo inclusive aminoácidos com carga líquida (ácido aspártico e glutâmico), de forma que o pH da solução ocasiona uma variação no balanço de cargas da superfície. A partir da análise do ponto isoelétrico da sericina (FIGURA 4.30), nas condições em que a força iônica é desprezível, destaca-se que o ponto de carga neutra encontra-se situado em pH na faixa de 3,20 – 3,35, pH próximo aos valores relatados para o potencial isoelétrico da sericina descrito em literatura, entre 3 – 4 (PADANWAR; PAWAR, 2004).

Valores de pH inferiores ao limite de 3,2 conferem à proteína carga líquida positiva. No estudo realizado por CHEN *et al.* (2012) com corante de estrutura azo de caráter ácido (amarelo ácido) e corante de estrutura básica (azul de metileno), nota-se que a sericina comercial promoveu a adsorção do corante ácido apenas em pH abaixo do ponto isoelétrico ( $\text{pH} < 3,5$ ), enquanto que a adsorção do corante básico foi inexpressível para toda faixa de pH estudada.

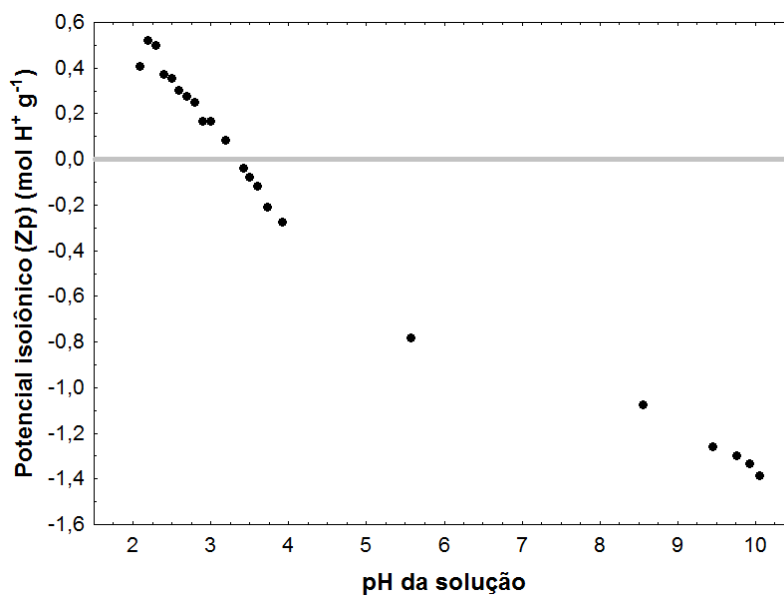


FIGURA 4.30 - POTENCIAL ISOIÔNICO DA SERICINA.

Presume-se, a partir dos resultados de massa adsorvida do corante Bordeaux S em função do pH (FIGURA 4.29), do potencial isoelétrico da sericina (FIGURA 4.30) e da estrutura química do corante Bordeaux S (FIGURA 2.7), que o processo de biossorção ocorre por interação eletrostática entre os grupos com carga líquida positivas da sericina com os grupos funcionais de carga líquida negativa do corante (grupos sulfônicos –  $\text{SO}_3^-$ ).

#### 4.6.2.1 Isotermas de biossorção do corante Bordeaux S

Os dados experimentais de equilíbrio para a biossorção do corante Bordeaux S com a sericina, são ilustrados na FIGURA 4.31 (a), enquanto as FIGURAS 4.31 (b-c-d) ilustram o comportamento preditivo dos modelos de isoterma de sorção (Langmuir, Freundlich e Temkin). A partir da avaliação dos parâmetros de ajuste estatísticos listados na TABELA 4.18 verifica-se que o modelo de Langmuir apresenta melhor capacidade preditiva para as temperaturas avaliadas.

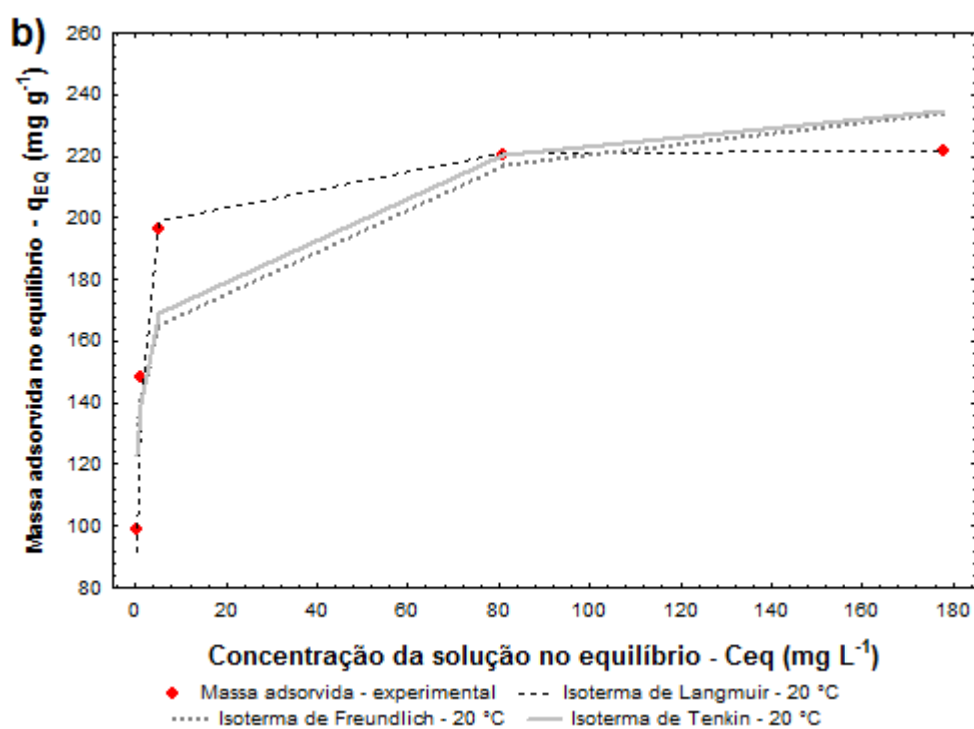
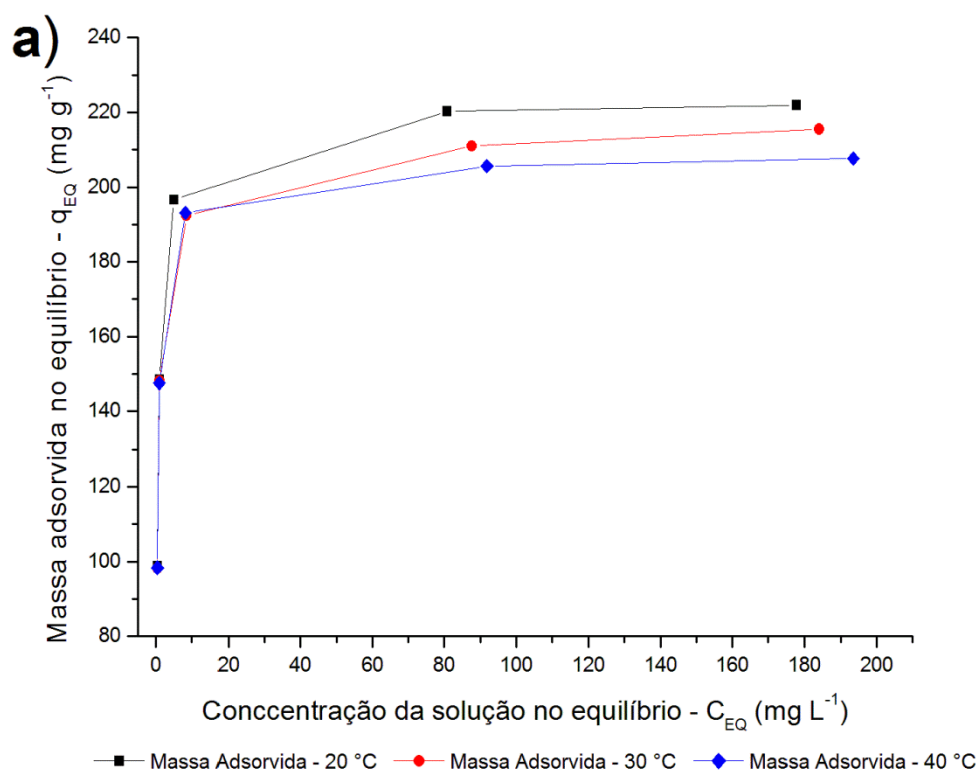


FIGURA 4.31 - ISOTERMA DE BIORSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S  
 a) DADOS DE ISOTERMA, b) MODELOS - 20 °C

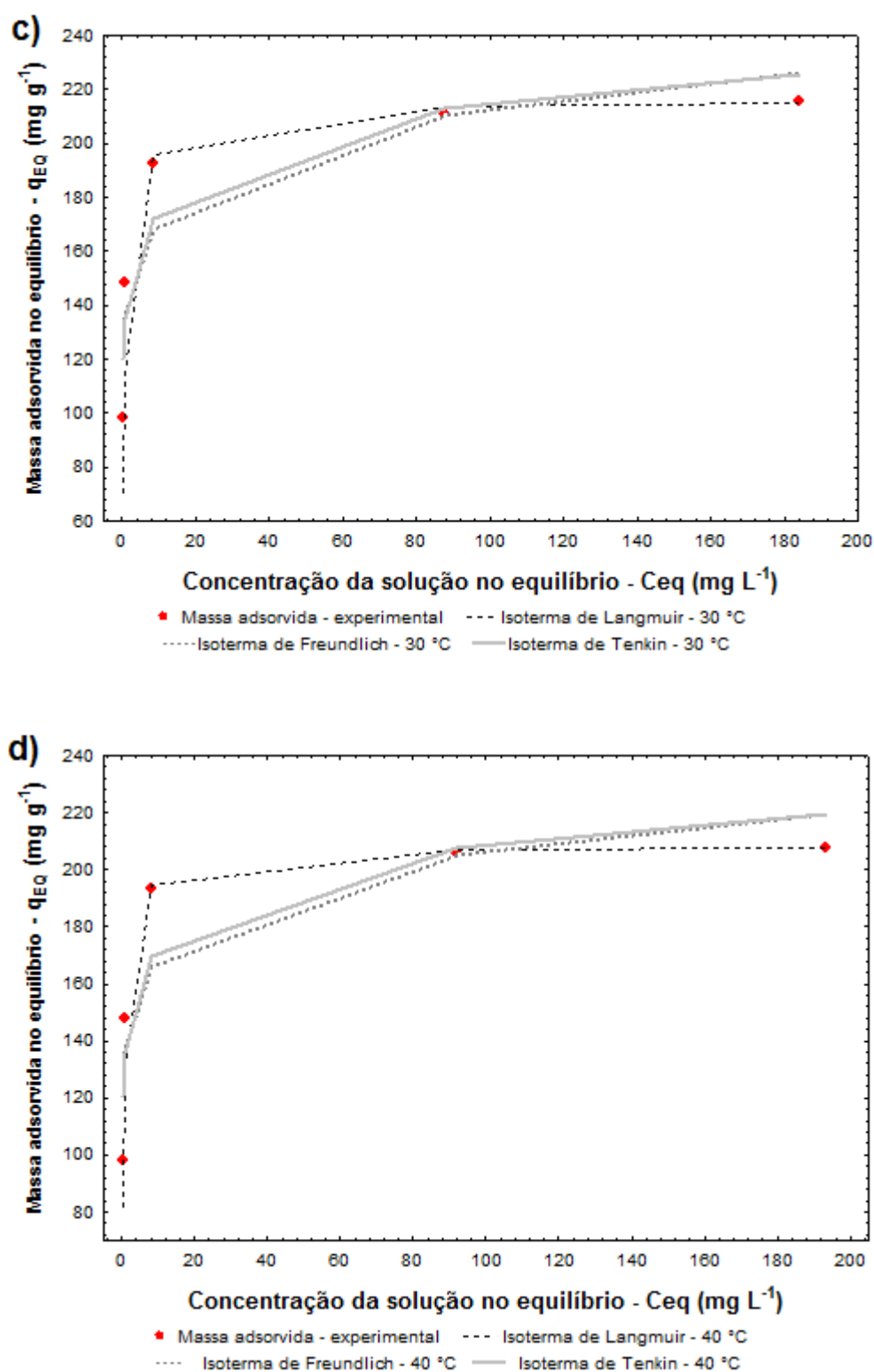


FIGURA 4.31 - ISOTERMA DE BIORSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S  
 c) MODELOS - 30 °C; d) MODELOS - 40 °C

Os modelos de Freundlich e Temkin, isothermas típicas para processo de adsorção em multicamada, apresentam estimativas acima dos valores experimentais (FIGURAS 4.31 b,c,d). Os desvios médios observados são da ordem de  $18,37 \text{ mg g}^{-1}$  até  $24,15 \text{ mg g}^{-1}$  e valores de  $EM$  e  $SQR$  entre 0,510 a 0,657 e 1349,19 a 2333,84 respectivamente. Os valores superestimados de massa adsorvida são compatíveis a sistema multicamada, no entanto, o perfil de massa adsorvida no equilíbrio sugere que a capacidade biossorbitiva da sericina é limitada à superfície, independente da concentração em solução.

TABELA 4.18 - PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE FREUNDLICH, LANGMUIR E TEMKIN; E PARÂMETROS DE AJUSTE ESTATÍSTICOS.

ISOTERMAS	PARÂMETROS	20 °C	30 °C	40 °C
LANGMUIR	$q_{\text{MAX}} (\text{mg g}^{-1})$	$222,52 \pm 0,22$	$215,87 \pm 1,09$	$208,04 \pm 0,42$
	$KL (\text{L mg}^{-1})$	$1,68 \pm 0,24$	$1,16 \pm 0,62$	$1,77 \pm 0,61$
	SQR	146,50	455,13	537,04
	EM	0,15	0,28	0,29
	s ( $\text{mg g}^{-1}$ )	6,05	10,67	11,59
FREUNDLICH	$K_F (\text{L}^n \text{mg}^{1-n} \text{g}^{-1})$	$141,34 \pm 15,96$	$136,68 \pm 14,10$	$137,66 \pm 14,66$
	n	$0,098 \pm 0,029$	$0,096 \pm 0,026$	$0,088 \pm 0,027$
	SQR	2153,42	1596,93	2333,84
	EM	0,593	0,538	0,657
	s ( $\text{mg g}^{-1}$ )	23,20	19,98	24,15
TEMKIN	$K_T (\text{L mg}^{-1})$	$1919,68 \pm 4504,06$	$2316,92 \pm 5004,15$	$5357,53 \pm 14345,12$
	$B (\text{J g mg}^{-2})$	$218,90 \pm 51,81$	$239,36 \pm 50,57$	$271,75 \pm 66,01$
	SQR	1612,59	1349,19	1918,84
	EM	0,510	0,523	0,588
	s ( $\text{mg g}^{-1}$ )	20,08	18,37	21,90

O modelo de Langmuir apresenta a melhor capacidade preditiva para o comportamento dos dados experimentais, na faixa de temperatura estudado. A hipótese de biossorção em monocamada apresenta-se congruente ao mecanismo de biossorção presumido neste trabalho: interação preferencialmente eletrostática entre os grupos com carga negativa do corante (grupos sulfônicos) e a carga líquida positiva da sericina em pH 2,0. A

biossorção, neste caso, é um fenômeno de superfície entre grupos funcionais da sericina e o corante, portanto, a biossorção ocorre enquanto tiver grupos funcionais disponíveis.

Atingindo o equilíbrio, ou seja, todos os grupos funcionais da sericina completamente ligados aos grupos carregados do corante, não há mais sítios disponíveis, de forma que se atinge o equilíbrio entre a concentração da solução e a massa de adsorvato retida pela sericina. Os efeitos de interação entre as moléculas do corante são limitadas pela repulsão eletrostática dos grupos com carga negativa líquida do corante, o que reduz a possibilidade de desenvolvimento de múltiplas camadas no entorno da sericina ao longo do tempo de operação.

Comportamento similar foi obtido por CHEN *et al.* (2012) para a biossorção do corante azo Amarelo 34 com a sericina comercial onde, em pH 1,5, foram obtidas taxas de biossorção da ordem de 1.286 mg g<sup>-1</sup> e comportamento do equilíbrio descrito satisfatoriamente pelo modelo de Isoterma de Langmuir (coeficiente de correlação de 99,9%).

#### 4.6.2.2 Parâmetros termodinâmicos de biossorção do corante Bordeaux S

Os parâmetros termodinâmicos de equilíbrio do processo de biossorção do corante Bordeaux S são apresentados na TABELA 4.19. Os valores de  $\Delta G_{ADS}$  negativos e de  $\Delta S_{ADS}$  positivo observados para as temperaturas avaliadas indicam que o processo ocorre de forma espontânea e com relevante afinidade entre a sericina e o corante Bordeaux S em pH 2,0.

TABELA 4.19 - PARÂMETROS TERMODINÂMICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S EM SERICINA.

Temperatura (°C)	Parâmetro	$K_{EQ}$ $r^2$ (%)	$\Delta G_{ADS}$ (KJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{ADS}$ (KJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_{ADS}$ (J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
20	337,53	99,2	-14,19		
30	208,41	98,2	-13,46	-0,27	46,12
40	331,67	99,7	-15,11		



Conforme observado no estudo do efeito do pH, somente em pH abaixo do ponto isoelétrico (ou do ponto isoiônico da sericina na ausência de eletrólitos em solução) a adsorção torna-se favorável pela relação de cargas da proteína e o corante, de forma que pela atração eletrostática e interações dipolo-dipolo a adsorção ocorre de forma favorável e espontânea. O valor de entropia positivo sugere que o processo de biossorção ocasiona uma mudança favorável na conformação da interface da proteína, mudando o seu estado de equilíbrio.

A entalpia de biossorção negativa obtida no estudo em questão indica a natureza exotérmica, de forma que o aumento da temperatura induz a uma redução da capacidade de fixação do corante na proteína, verificado pelo comportamento do processo no equilíbrio (FIGURA 4.31-a). O baixo valor verificado ( $\Delta H_{ADS} -0,27 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ) indica que o processo sofre pouca influência da temperatura, uma vez que a queda na capacidade de biossorção entre as temperaturas de 20 °C (capacidade máxima de biossorção estimada de 221,89 mg g<sup>-1</sup>) e de 40 °C (capacidade máxima de biossorção estimada em 208,04 mg g<sup>-1</sup>) foi de apenas 6,57 %, com o aumento em 20 °C na temperatura do processo.

#### 4.6.2.3 Cinética de biossorção do corante Bordeaux S

O estudo cinético dos processos de biossorção do corante Bordeaux S com sericina foi conduzido a concentração fixa de 300 mg L<sup>-1</sup> e massa de biossorvente de 30 mg, para o volume de batelada de 30 mL. De forma comparativa, amostras de fibroína obtidas durante o processo de extração foram submetidas a ensaios cinéticos nas mesmas condições estabelecidas para o estudo desenvolvido para a sericina.

A FIGURA 4.32 apresenta o perfil cinético obtido para diferentes temperaturas e a TABELA 4.20 apresenta o desempenho da biossorção com ambos os materiais. Em pH = 3,0 nota-se uma rápida biossorção, de forma que em tempo de 30 minutos atinge-se taxa de biossorção estabiliza.

TABELA 4.20 - EFEITO DA TEMPERATURA NA CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S PARA A SERICINA E FIBROÍNA.

Temperatura (°C)	Massa adsorvida Sericina (mg g <sup>-1</sup> )	% Remoção Sericina	Massa adsorvida Fibroína (mg g <sup>-1</sup> )	% Remoção Fibroína
20	214,06 ± 3,06 <sup>A</sup>	72,7 ± 0,8 <sup>A</sup>	47,49 ± 1,68 <sup>B</sup>	15,8 ± 0,5 <sup>B</sup>
30	197,98 ± 2,36 <sup>B</sup>	66,5 ± 0,7 <sup>B</sup>	53,80 ± 0,26 <sup>A</sup>	17,9 ± 0,1 <sup>A</sup>
40	192,03 ± 2,46 <sup>B</sup>	65,3 ± 1,0 <sup>B</sup>	51,50 ± 0,83 <sup>A</sup>	17,2 ± 0,3 <sup>A</sup>

\* Letras iguais na coluna indicam valores iguais conforme Teste de Tukey a 5 % de significância.

A temperatura de 20 °C apresentou o melhor desempenho biossorbitivo para a sericina, com a massa adsorvida média de 214,06 mg g<sup>-1</sup>; enquanto que para fibroína as temperatura de 30 °C e 40 °C obtiveram desempenho estatisticamente equivalentes, de 53,80 mg g<sup>-1</sup> e 51,50 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente.

O percentual de remoção do corante da solução, ao final de cada cinética avaliada, variou entre 65,3 % a 72,7 % para a sericina, enquanto que para a fibroína, a remoção obtida para uma concentração inicial de 300 mg foi entre 15,8 e 17,9 %.

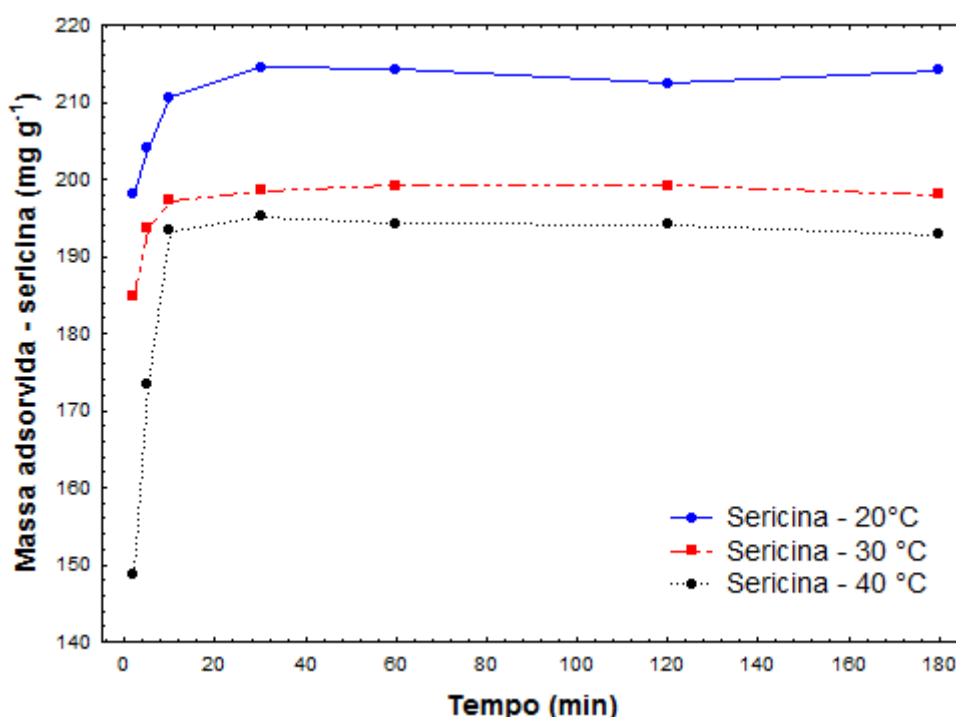


FIGURA 4.32 - CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEAUX S COM SERICINA.

Presume-se que a diferença de capacidade de biossorção entre as proteínas esteja associada à diferença das estruturas primárias de cada

proteína. A sericina possui composição de aminoácidos polares de 61,36 % e, em meio aquoso com excesso de  $H^+$ , apresentam carga líquida superficial positiva. A carga líquida positiva da proteína interage com os grupos com cargas negativas do corante (núcleo sulfônico  $SOO^-$ ) mediante interações fracas polares dipolo-dipolo induzidos ou permanentes.

Enquanto a fibroína, por dispor de apenas 18,14 % de grupos polares (TABELA 4.6), apresenta capacidade de bioadsorção que equivale de 22,2 % a 26,8 % do potencial bioadsorptivo da sericina, em função da temperatura; mesmo com a área superficial da fibroína ( $120,10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ) maior que a da sericina ( $18,5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ). Devido à predominância de cadeias apolares, as interações da fibroína com o corante devem ocorrer por interações de Van der Waals de menor especificidade, ocasionando menor potencial de bioadsorção.

O aumento da temperatura sugere uma desestabilização das ligações entre os sítios ativos da sericina e os grupos funcionais carregados do corante, de forma que a variação na massa adsorvida entre as temperaturas de 20 °C e 40 °C é da ordem de 9,8 %. Para a fibroína, no entanto, o aumento da temperatura pouco contribui para a bioadsorção em virtude de dois efeitos: a redução das interações entre a fração hidrofílica com carga parcial da proteína, compensada pelo aumento das interações de Van der Waals. Desta forma, a elevação da temperatura pouco contribuiu para a melhoria no desempenho da bioadsorção, nos níveis de temperatura estudados.

Os valores de adsorção obtidos para o corante Bordeaux S mostram-se muito significativos, de forma a viabilizar o uso das proteínas derivadas do casulo do bicho da seda, especialmente a sericina, para a remoção de corantes de caráter ácido. Em comparação com o desempenho obtido neste estudo, destaca-se o trabalho desenvolvido por GONG *et al.* (2005), no qual, cascas de amendoim foram utilizadas para ensaios de bioadsorção do corante Bordeaux S; a condição de melhor adsorção observada foi a 30 °C em pH 2,0, obtendo uma massa adsorvida de  $14,9 \text{ mg g}^{-1}$  no equilíbrio.

Os ajustes dos modelos cinéticos propostos para as cinéticas de bioadsorção do corante Bordeaux S com a sericina seguem descritos na TABELA 4.21. A FIGURA 4.33 apresenta os gráficos relacionando os dados preditos pelos modelos matemáticos e os valores experimentais.

Destaca-se, em concordância com a caracterização da sericina quanto à área superficial e MEV, que a partícula de sericina seja definida como não porosa, com mecanismos de bioadsorção superficiais. Neste caso, os modelos de difusão intrapartícula não contemplam o fenômeno adsorptivo que ocorre entre a sericina e o corante. Verificaram-se grandes desvios do comportamento experimental e do estimado pelo modelo de Difusão de Weber (valores de *EM* variando entre 3,40 e 3,45 e valores de *SQR* entre 62.829,24 e 89.317,17), indicando que o modelo não é preditivo (FIGURA 4.33-d).

TABELA 4.21 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO CORANTE BORDEUX S POR SERICINA.

Modelos cinéticos		20 °C	30 °C	40 °C
Pseudo-primeira ordem	$K_1$	$1,26 \pm 0,13$	$1,31 \pm 0,67$	$0,67 \pm 0,06$
	$q_{MAX}$	$214,49 \pm 0,87$	$199,15 \pm 7,47$	$195,10 \pm 3,16$
	<i>SQR</i>	138,33	34,17	254,09
	<i>s</i>	4,45	2,21	6,05
	<i>EM</i>	0,10	0,05	0,15
Pseudo-segunda ordem	$K_2 \times 10^2$	$2,72 \pm 0,28$	$3,25 \pm 0,15$	$0,81 \pm 0,01$
	$q_{MAX}$	$213,99 \pm 0,14$	$199,37 \pm 0,06$	$197,16 \pm 0,13$
	<i>SSR</i>	15,54	2,44	87,35
	<i>s</i>	1,49	0,59	3,53
	<i>EM</i>	0,04	0,02	0,10
Difusão intrapartícula Weber Morris	$K_W$	$23,18 \pm 4,94$	$21,59 \pm 4,64$	$20,87 \pm 4,14$
	<i>SQR</i>	89317	78801	62829
	<i>s</i>	122,01	114,60	102,30
	<i>EM</i>	3,45	3,45	3,40
Difusão intrapartícula Crank	$K_C$	$0,86 \pm 0,11$	$0,91 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,02$
	$q_{MAX}$	$214,95 \pm 4,75$	$199,12 \pm 7,47$	$192,8 \pm 3,46$
	<i>SQR</i>	706,29	533,78	733,78
	<i>s</i>	10,04	8,73	10,24
	<i>EM</i>	0,11	0,07	0,16
Modelo convectivo de transferência de massa em filme externo	$K_{TM} \times 10^2$	$1,66 \pm 0,01$	$1,65 \pm 0,01$	$1,63 \pm 0,01$
	<i>SQR</i>	453,57	408,07	416,44
	<i>s</i>	8,70	8,25	26,36
	<i>EM</i>	0,66	0,74	0,61

Comportamento similar é observado pelo modelo difusivo de Crank, com valores significativos de *EM* entre 1,32 a 8,49. Este modelo considera partículas homogêneas com raio hidráulico *R*, porém a sericina caracteriza-se como uma partícula não porosa e possui estrutura irregular devido a combinações de estruturas randômicas e folha- $\beta$ , de forma a ocasionar os desvios ao modelo de Crank em relação ao comportamento experimental.

Conforme esperado, os modelos cinéticos que avaliam a transferência de massa externa apresentam melhor desempenho, notadamente o modelo de pseudo-segunda ordem, com valores de  $EM$  e  $SQR$  variando entre 0,22 e 0,43 e entre 330,18 e 1164,55.

Como, no modelo de pseudo-segunda ordem, a variação da massa adsorvida por tempo é delimitada pelo gradiente quadrático da concentração, a estimativa de velocidade de bioadsorção é maior, em comparação ao de pseudo-primeira ordem e modelo de difusão de Crank. Neste caso, este modelo possui maior capacidade de ajuste nas regiões iniciais, de forma que os desvios apresentados ( $EM$ ,  $SQR$  e  $s$ ) são inferiores aos demais modelos avaliados.

O modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa em filme externo considera a transferência de massa do meio da solução para a interface da camada limite adjacente à superfície. Este modelo não considera a difusão intrapartícula.

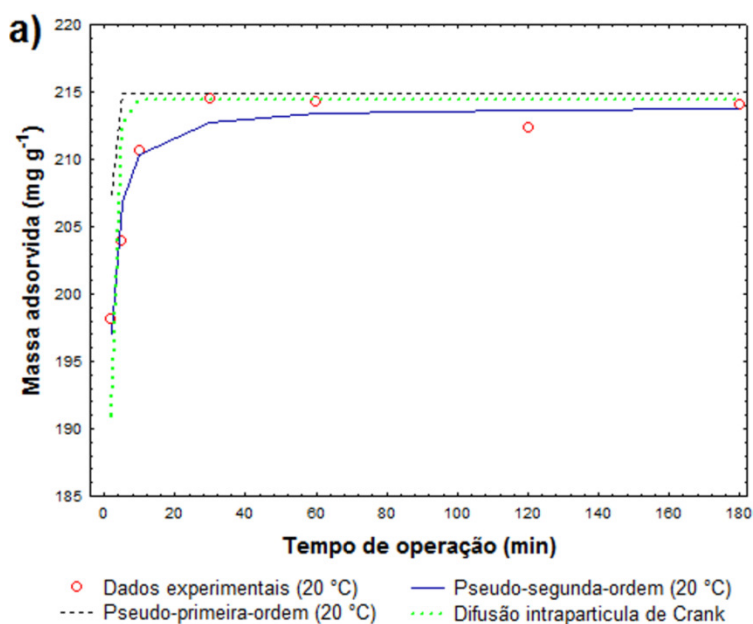


FIGURA 4.33 - MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO BORDEAUX S.  
a) T = 20 °C.

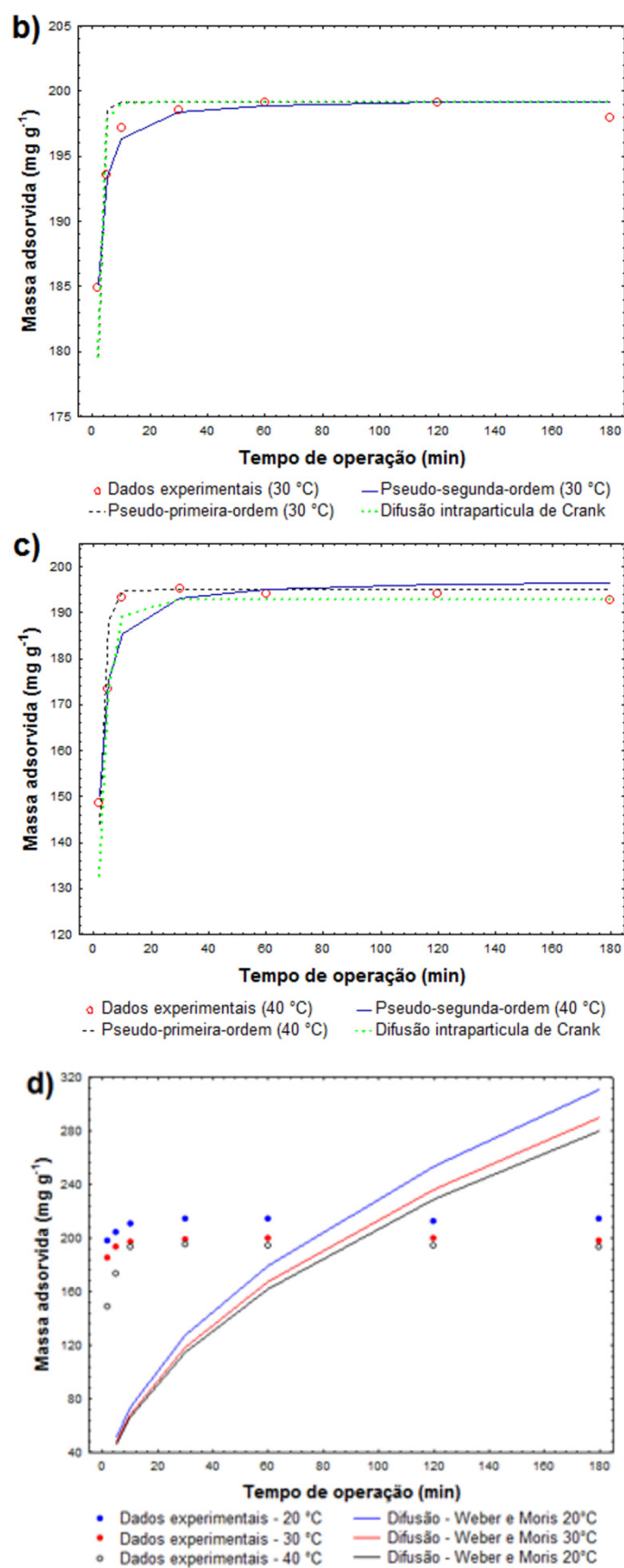


FIGURA 4.33 - MODELOS CINÉTICOS PARA A BIOSSORÇÃO DO BORDEAUX S.  
 b)  $T = 30\text{ °C}$ ; c)  $T = 40\text{ °C}$ ;  
 d) MODELO DE DIFUSÃO DE WEBER PARA AS TEMPERATURAS ESTUDADAS.

O coeficiente de transferência de massa variou entre  $1,63 \times 10^{-3}$  e  $1,66 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , mostrando-se quase independente da temperatura. No estudo desenvolvido por PURANIK, MODAK e PAKNIKAR (1999) obtiveram-se coeficientes de transferência de massa externo entre  $1,0 \times 10^{-3}$  e  $1,6 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  para a bioadsorção de metais (zinco e cobre) em biomassa composta por bactérias.

A variação da massa de corante adsorvida ao longo do tempo, para as temperaturas avaliadas, de acordo com o modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa, segue ilustrada na FIGURA 4.34. A partir do perfil destacado, nota-se a limitação do modelo em detectar a variação imediata da concentração nos instantes iniciais (fonte predominante de desvio dos parâmetros  $EM$ ,  $SQR$  e  $s$ ). Para ambas as temperaturas, os valores obtidos pelo modelo para tempos de operação prolongados são superiores aos valores observados experimentalmente.

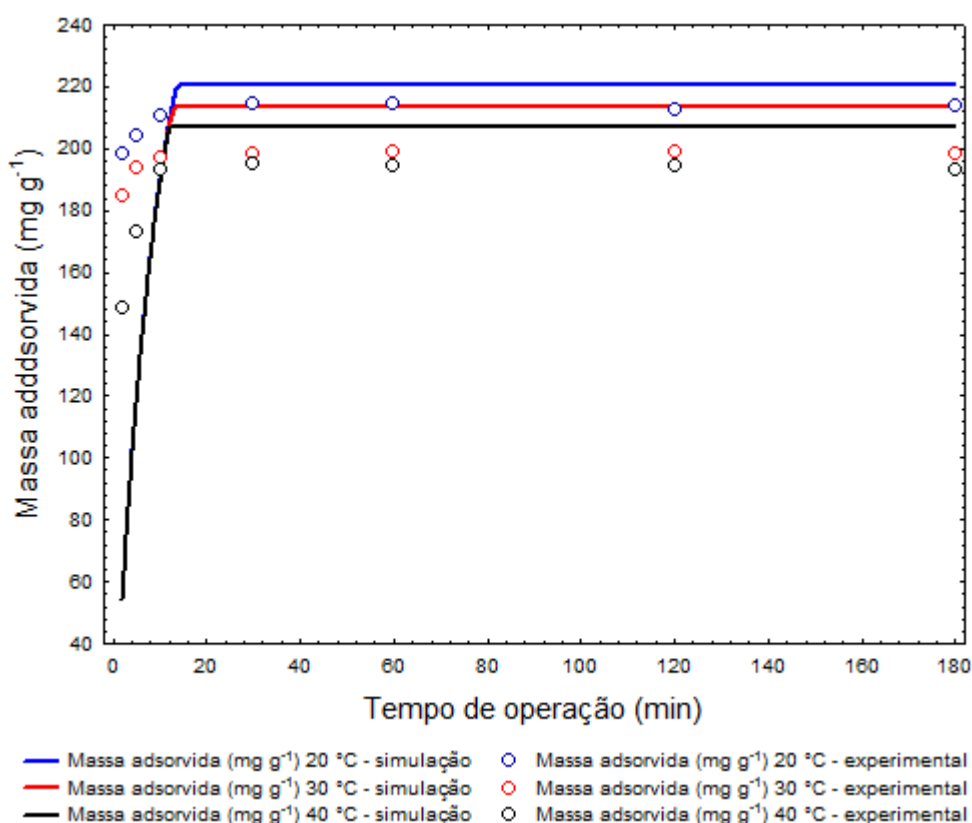


FIGURA 4.34 - BIOSSORÇÃO DO BORDEUAX S POR MEIO DO MODELO DIFUSIVO LIMITADO PELA TRANSFERÊNCIA DE MASSA EXTERNA.

Uma vez que os valores dos coeficientes de transferência de massa externos obtidos pelo algoritmo estocástico para otimização paramétrica adotado são semelhantes, para as temperaturas avaliadas, a variação entre as simulações são atribuídas especificamente aos parâmetros de equilíbrio do processo definidos pela isoterma de Langmuir.

A variação da concentração do corante Bordeaux S na solução e a estimativa da concentração de equilíbrio ao longo do tempo são ilustradas na FIGURA 4.35. A concentração da solução decresce rapidamente até atingir o equilíbrio. A concentração de equilíbrio, na região adjacente a superfície da sericina, tende a crescer no início em decorrência da bioadsorção do corante na superfície da sericina.

Durante o processo a concentração do corante em solução diminui enquanto a concentração de equilíbrio na interface entre a solução e a superfície da sericina aumenta por meio da migração do corante para a superfície da sericina. O equilíbrio ocorre com a equivalência entre a concentração residual da solução e a concentração do corante de equilíbrio, decorrentes da saturação dos sítios adsortivos da proteína. Devido a afinidade eletrostática entre o corante e a sericina, para o pH inferior a 3,5, a cinética desenvolve-se de forma acelerada, sendo o equilíbrio atingido antes dos 30 minutos de operação independente da temperatura de operação.

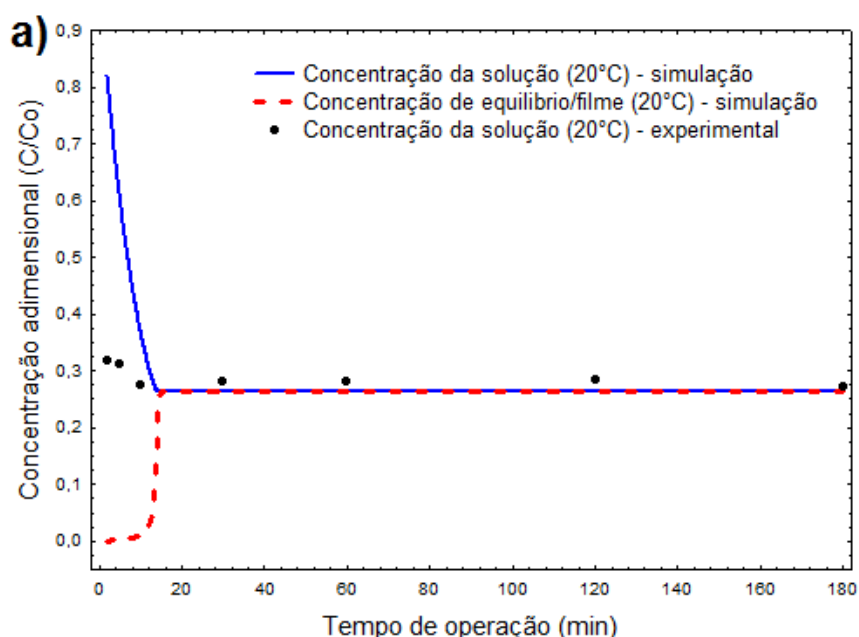


FIGURA 4.35 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CORANTE AO LONGO DO TEMPO  
a) T = 20 °C



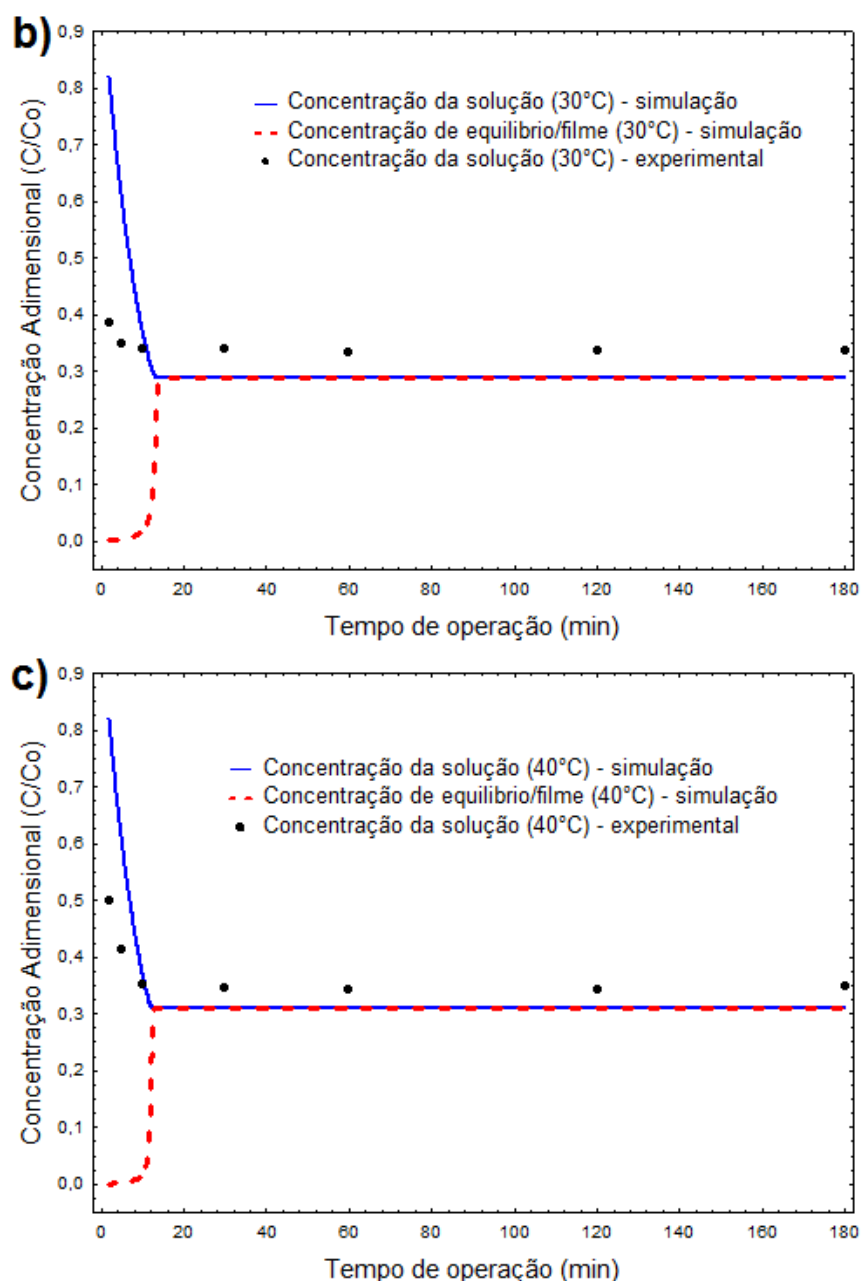


FIGURA 4.35 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CORANTE AO LONGO DO TEMPO  
b)  $T = 30\text{ °C}$ ; c)  $T = 40\text{ °C}$

#### 4.6.3 Bioissorção de cobre

De forma análoga ao estudo de bioissorção com o corante Bordeaux S, testes de bioissorção de cobre foram realizados variando o pH da solução. Como o objetivo do estudo foi verificar a capacidade de remoção do cobre na forma iônica, variou-se o pH na faixa em que o cobre encontra-se

predominante na forma catiônica  $\text{Cu}^{2+}$ , de acordo com o diagrama de especiação do cobre (FIGURA 4.36). O volume de 30 mL de uma solução contendo a concentração de  $25 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  a diferentes valores de pH foram adicionadas ao montante de 30 mg de sericina. O desempenho obtido, nestes ensaios, é ilustrado na FIGURA 4.37.

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{TOT}} = 10.00 \text{ } \mu\text{M}$$

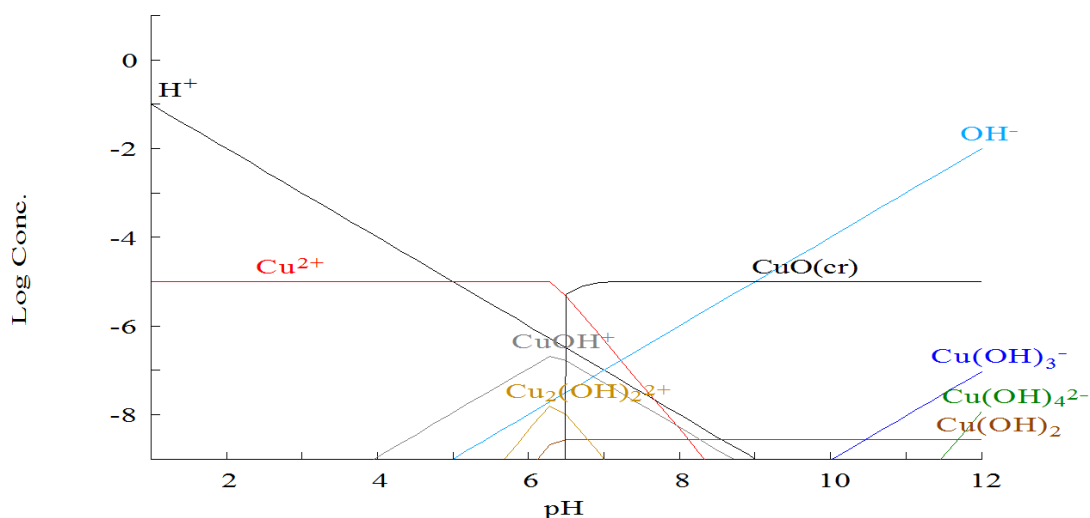


FIGURA 4.36 - DIAGRAMA DE ESPECIAÇÃO DO COBRE EM FUNÇÃO DO pH.

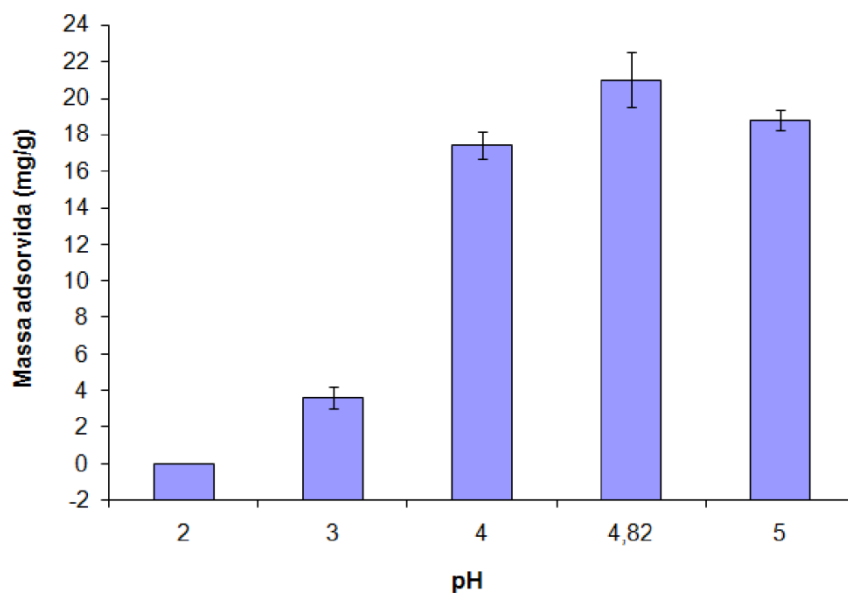


FIGURA 4.37 - EFEITO DO pH NA BIOSSORÇÃO DE COBRE POR SERICINA.

Destaca-se que, uma vez que o cobre em solução na faixa de pH entre 2 a 6 encontra-se na forma de cátion bivalente, a bioissorção em pH inferior a 3,2 e 3,4 é pouco significativa devido à carga líquida da sericina ser positiva (conforme potencial isoiônico da sericina apresentado na FIGURA 4.30). Em pH próximo ao da dissolução do sal na concentração trabalhada ( $50 \text{ mg L}^{-1}$  – pH de 4,82) a taxa de remoção do íon da solução foi máxima, da ordem de  $20,97 \pm 1,97 \text{ mg g}^{-1}$  a  $20^\circ \text{C}$ .

Conforme ilustrado na FIGURA 4.30, destaca-se que o ponto de carga neutro da sericina encontra-se situado em pH na faixa de 3,20 – 3,35. Valores de pH acima deste intervalo, conferem à proteína carga líquida negativa, favorecendo a bioissorção do cátion metálico.

No estudo realizado por CHEN *et al.* (2011), soluções contendo ouro, prata e cobre foram submetidas à bioissorção com a sericina em pó obtida mediante processo de degomagem tradicional (sericina hidrolisada). Para valores de pH inferiores ao ponto isoeletrico, próximo a 3,5 segundo os autores, a bioissorção de cobre e prata foi nula, enquanto a bioissorção de ouro foi da ordem de  $20 \text{ mg g}^{-1}$ . Para valores de pH acima de 3,5, detectou-se a bioissorção tanto de cobre quanto de prata.

Segundo os autores citados, a bioissorção do ouro ocorreu em decorrência da predominância da espécie  $\text{AuCl}_4^-$  em pH ácido, interagindo com os grupos protonados da sericina (especialmente o  $-\text{NH}_4^+$ ) em pH inferiores ao ponto isoeletrico. Enquanto que os sais de cobre e de prata, em pH ácidos possuem predominância catiônica, de forma que a bioissorção é favorecida apenas em pH acima do ponto isoeletrico.

O pH fixado para os ensaios de equilíbrio e cinético foi de  $4,82 \pm 0,05$  (pH obtido diretamente pela dissolução do sal  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em água para obtenção de uma solução com concentração em cobre de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ ), em decorrência do melhor desempenho observado, conforme ilustrado na FIGURA 4.37.

#### 4.6.2.2 Isotermas de biossorção do cobre

Os dados experimentais de equilíbrio para a biossorção para o cobre com a sericina, são ilustrados na FIGURA 4.38 (a), enquanto as FIGURAS 4.38 (b-c-d) ilustram o comportamento preditivo dos modelos de isoterma de sorção (Langmuir, Freundlich e Temkin).

Os modelos de isoterma de multicamada de Freundlich e Temkin apresentam estimativas acima dos valores experimentais (FIGURAS 4.38 b,c,d), próximos aos valores obtidos para a isoterma de monocamada de Langmuir. Os desvios médios ( $s$ ) observados para as isotermas multicomponentes são da ordem de  $0,83 \text{ mg g}^{-1}$  até  $1,10 \text{ mg g}^{-1}$  e os valores de  $EM$  e  $SQR$  entre  $0,17$  a  $0,28$  e  $2,77$  a  $4,85$  respectivamente.

TABELA 4.22 - PARÂMETROS DAS ISOTERMAS DE FREUNDLICH, LANGMUIR E TEMKIN; E PARÂMETROS DE AJUSTE ESTATÍSTICOS.

ISOTERMAS	PARÂMETROS	20 °C	40 °C	60 °C
LANGMUIR	$q_{\text{MAX}} (\text{mg g}^{-1})$	$22,70 \pm 0,85$	$22,71 \pm 1,35$	$18,30 \pm 0,70$
	$K_L (\text{L mg}^{-1})$	$0,24 \pm 0,11$	$0,09 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,22$
	SQR	2,23	3,26	3,76
	EM	0,15	0,20	0,25
	$s (\text{mg g}^{-1})$	0,75	0,90	0,97
FREUNDLICH	$K_F (\text{L}^n \text{mg}^{1-n} \text{g}^{-1})$	$13,13 \pm 2,36$	$8,47 \pm 2,28$	$10,64 \pm 2,07$
	$n$	$0,118 \pm 0,047$	$0,199 \pm 0,070$	$0,125 \pm 0,054$
	SQR	2,95	4,20	4,88
	EM	0,18	0,23	0,28
	$s (\text{mg g}^{-1})$	0,86	1,02	1,10
TEMKIN	$K_T (\text{L mg}^{-1})$	$89,97 \pm 279,45$	$3,01 \pm 4,87$	$68,70 \pm 206,99$
	$B (\text{J g mg}^{-2})$	$1,59 \pm 0,60$	$1,14 \pm 0,38$	$2,10 \pm 0,82$
	SQR	2,77	3,92	4,45
	EM	0,17	0,22	0,26
	$s (\text{mg g}^{-1})$	0,83	0,99	1,05

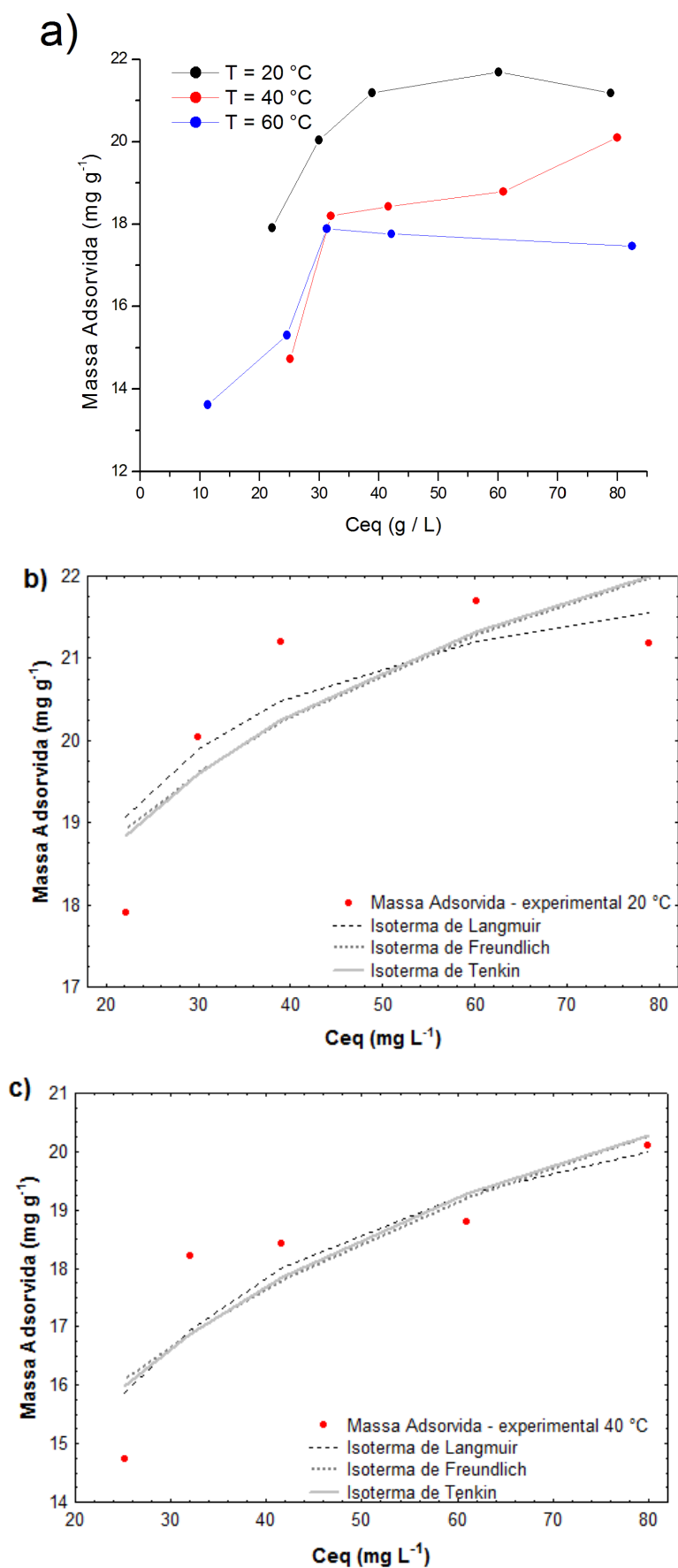


FIGURA 4.38 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO COBRE COM SERICINA  
 a) DADOS DE ISOTERMA, b) MODELOS -  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; c) MODELOS -  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

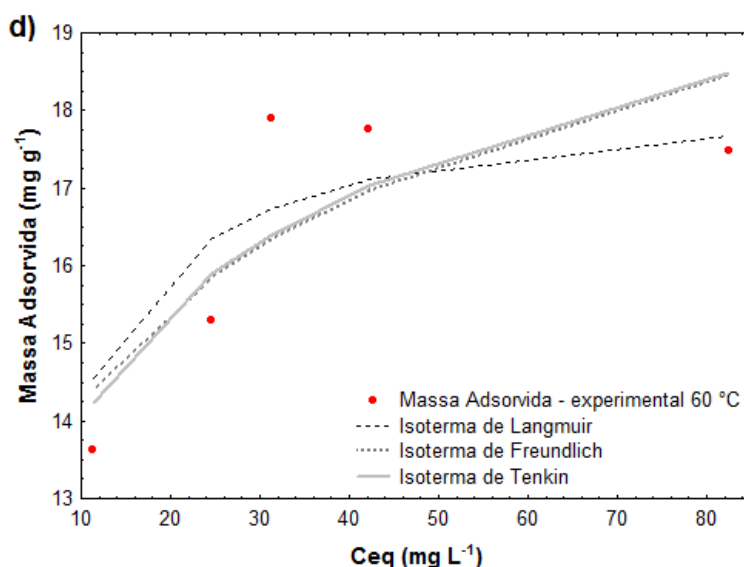


FIGURA 4.38 - ISOTERMA DE BIOSSORÇÃO DO COBRE COM SERICINA  
d) MODELOS - 60 °C

Os valores de adsorção obtidos para o íon  $\text{Cu}^{2+}$  mostram-se significativos para aplicação em desenvolvimento de materiais voltados a processos de adsorção de contaminantes metálicos. Conforme previamente destacado, no estudo desenvolvido por CHEN *et al.* (2011) foram obtidos valores de bioadsorção de  $\text{Cu}^{2+}$  da ordem de  $20 \text{ mg g}^{-1}$ . Presume-se que o tamanho da cadeia molecular da sericina (massa molar) não seja significativa para o rendimento do processo de sorção, limitado especialmente pela composição de aminoácidos e disponibilidades de grupos funcionais capazes de promover a complexação dos íons catiônicos.

Em comparação com o desempenho obtido neste estudo, destaca-se o trabalho desenvolvido por KHORMAEI *et al.* (2007), no qual, o resíduo agroindustrial de laranja foi utilizado para ensaios de bioadsorção de  $\text{Cu}^{2+}$ ; obtendo rendimento ótimo em torno de  $21,7 \text{ mg g}^{-1}$ , em pH 5,0 a temperatura de 20 °C.

No mesmo estudo, foram verificadas (mediante análise de infravermelho - FTIR) mudanças nas intensidades do pico de  $1631 \text{ cm}^{-1}$  (característico da ligação  $\text{C} = \text{O}$ ) e no pico  $3423 \text{ cm}^{-1}$  (característico de grupos  $-\text{OH}$ ) entre o bioadsorvente antes da adsorção e o bioadsorvente contendo o  $\text{Cu}^{2+}$  adsorvido. O comportamento descrito sugere que estes grupos funcionais (igualmente

presentes nos aminoácidos majoritários da sericina: serina, ácido aspártico) promovem a complexação do cátion.

Conforme o estudo desenvolvido por CHEN *et al.* (2011), a fixação dos íons  $\text{Cu}^{2+}$  ocorrem predominantemente por mecanismo de complexação protéica, entre grupos de aminoácidos e o cátion divalente, notadamente os aminoácidos com grupos funcionais carboxílicos (ácido aspártico) e hidroxilados (serina), que constituem até 34 % em mol da composição de aminoácidos da sericina.

#### 4.6.2.3 Parâmetros termodinâmicos de bioadsorção do cobre

Os parâmetros termodinâmicos de equilíbrio do processo de bioadsorção do cobre são apresentados na TABELA 4.23.

TABELA 4.23 - PARÂMETROS TERMODINÂMICOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA.

Temperatura (°C)	$K_{EQ}$		$\Delta G_{ADS}$ (KJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{ADS}$ (KJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_{ADS}$ (J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	$r^2$ (%)
	Parâmetro	$r^2$ (%)				
20	13,287	99,8	-6,31			
40	7,527	95,9	-5,26	-27, 80	-70,48	98,35
60	3,497	95,7	-3,45			

Conforme observado no estudo do efeito do pH, para valores acima do ponto isoelétrico (ou do ponto isoônico da sericina na ausência de eletrólitos em solução) a adsorção torna-se favorável devido à interação entre a carga líquida negativa da proteína e o íon  $\text{Cu}^{+2}$ . Nestas condições a adsorção ocorreu de forma favorável e espontânea, com valores de  $\Delta G$  variando de -6,31 a -3,45 kJ mol<sup>-1</sup>. O aumento do valor da energia livre, com a temperatura indica que o processo torna-se menos espontâneo, ou seja, o aumento da temperatura desfavorece a adsorção.

A entalpia de bioadsorção negativa obtida no estudo em questão indica a natureza exotérmica (FIGURA 4.38-a), sendo que o aumento da temperatura induziu a redução da capacidade de fixação do íon  $\text{Cu}^{2+}$  na proteína, compatível com variação de  $\Delta G$  verificada. O valor de  $\Delta H$  obtido, de -27,80 kJ

$\text{mol}^{-1}$  indica que o processo é de natureza química, compatível com os mecanismos de complexação de metais pela ação quelante dos grupos carboxilas e hidroxilas.

A redução na capacidade de bioissorção entre as temperaturas de 20 °C (capacidade máxima de bioissorção estimada de 21,18  $\text{mg g}^{-1}$ ) e de 60 °C (capacidade máxima de bioissorção estimada em 17,67  $\text{mg g}^{-1}$ ) foi de 17,52 %, com o aumento em 40 °C na temperatura do processo.

O valor de  $\Delta S$  de -70,48  $\text{kJ mol}^{-1} \text{K}^{-1}$  sugere que a superfície da sericina passou de um estado desordenado para uma conformação mais organizada, característica compatível com processo de complexação, na qual o metal forma pontes com núcleos eletrofílicos, mudando a conformação estereoquímica da molécula, reduzindo a mobilidade dos grupos funcionais da proteína.

#### 4.6.2.1 Cinética de bioissorção do cobre

O estudo cinético dos processos de bioissorção de íons  $\text{Cu}^{2+}$  em sericina foi conduzido a concentração fixa de 50  $\text{mg L}^{-1}$ , massa de bioissorvente de 30 mg, volume de batelada de 30 mL, e o pH da solução fixado em 4,82.

A FIGURA 4.39 ilustra o perfil cinético obtido para diferentes temperaturas. A TABELA 4.24 apresenta os valores médios de massa adsorvida de íons cobre em função do tempo para cada temperatura e o seu comparativo, mediante análise de variância e teste de Tukey.

Destaca-se que a bioissorção mostra-se dependente da temperatura. Porém, independente da temperatura avaliada (na faixa de temperatura estudada), o comportamento cinético observado foi do rápido equilíbrio obtido entre a solução e a massa adsorvida na superfície da proteína, de forma que a variação do tempo de operação (no intervalo de tempo estudado) não foi significativa para a remoção da sericina (TABELA 4.24).



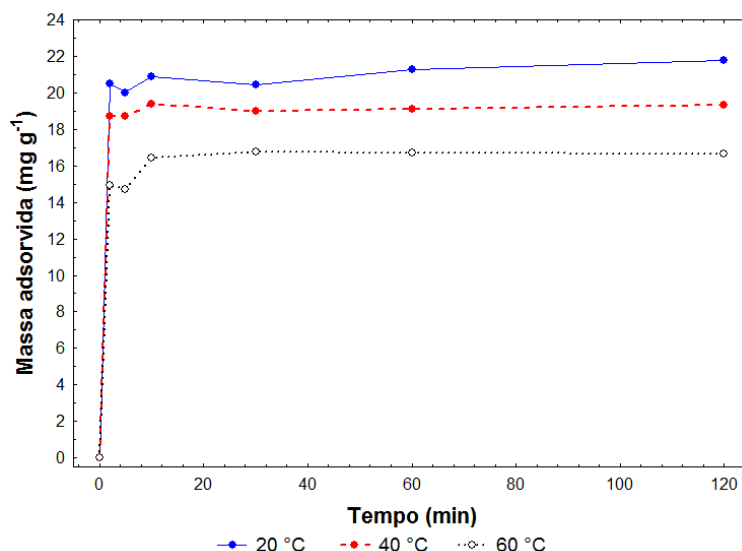


FIGURA 4.39 - CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA.

O percentual de remoção de cobre obtido com a relação 30 mg de sericina por 30 mL de solução a uma concentração inicial de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  variou entre 29,8 % e 41,2 % entre as temperaturas. A partir da TABELA 4.24, nota-se que a temperatura de 20 °C apresenta melhor desempenho bioadsorptivo para a sericina, com a massa adsorvida média de  $21,77 \text{ mg g}^{-1}$ .

TABELA 4.24 - BIOSSORÇÃO DE COBRE EM SERICINA A DIFERENTES VALORES DE pH A 20 °C E CONCENTRAÇÃO DE  $50 \text{ mg L}^{-1}$ .

Tempo (min) <sup>2</sup>	Temp. (°C) <sup>3</sup>					
	2	5	10	30	60	120
20	$20,51 \pm 1,03 \text{ aA}$	$20,02 \pm 0,57 \text{ aA}$	$20,91 \pm 0,09 \text{ aA}$	$20,45 \pm 1,33 \text{ aA}$	$21,27 \pm 0,67 \text{ aA}$	$21,77 \pm 1,49 \text{ aA}$
40	$18,92 \pm 0,46 \text{ aB}$	$19,02 \pm 0,77 \text{ aA}$	$19,69 \pm 1,53 \text{ aA}$	$18,56 \pm 1,49 \text{ aAB}$	$19,51 \pm 1,12 \text{ aAB}$	$19,23 \pm 0,22 \text{ aAB}$
60	$15,04 \pm 1,01 \text{ aC}$	$14,50 \pm 0,64 \text{ aB}$	$15,71 \pm 0,64 \text{ aB}$	$16,24 \pm 0,88 \text{ aB}$	$16,90 \pm 1,11 \text{ aB}$	$16,09 \pm 1,18 \text{ aB}$

1 - Valores de bioadsorção expressos em  $\text{mg g}^{-1}$ .

2 - Letras minúsculas iguais na mesma linha representam valores de massa acumulada iguais ao longo do tempo, conforme teste de Tukey a 5 % de significância.

3 - Letras maiúsculas iguais na mesma coluna representam valores de massa acumuladas iguais entre os modos de operação por tempo, conforme teste de Tukey a 5% de significância

Os ajustes dos modelos cinéticos propostos para as cinéticas de bioadsorção de íons  $\text{Cu}^{2+}$  com a sericina seguem descritos na TABELA 4.25. A FIGURA 4.41 apresenta os gráficos relacionados aos dados preditos e os modelos matemáticos e os valores experimentais.

Análogo ao comportamento observado para o corante Bordeaux S, os modelos de difusão intrapartícula não contemplam o fenômeno adsorptivo que ocorre entre a sericina e o cátion  $\text{Cu}^{2+}$ . Os Erros Médios Absolutos (EM) entre

2,75 e 2,81 e a Soma Quadrática dos Resíduos ( $SQR$ ) entre 401,09 e 721,53 para o modelo de Difusão de Weber indicam grande desvios frente ao comportamento experimental (FIGURA 4.33-d).

Os modelos cinéticos que apresentaram a melhor capacidade preditiva foram os modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordens, com valores de  $EM$  e  $SQR$  variando de 0,17 a 0,25 e de 3,13 a 9,20. A FIGURA 4.41 ilustra os valores experimentais de massa adsorvida e os preditos pelo modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa.

O ajuste do modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa não apresentou variação do coeficiente convectivo de transferência de massa (TABELA 4.25).

TABELA 4.25 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS PARA A BIODSORÇÃO DE COBRE POR SERICINA.

Modelos cinéticos avaliados		20 °C	40 °C	60 °C
Massa adsorvida no equilíbrio $q_{EQ}$ (mg g <sup>-1</sup> )		21,77 ± 0,22	21,20 ± 1,09	15,72 ± 0,42
Pseudo-primeira ordem	$K_1$	1,402 ± 0,504	1,020 ± 0,374	1,485 ± 0,558
	$SQR$	5,72	3,99	3,63
	$s$	1,07	0,89	0,85
	$EM$	0,22	0,17	0,24
Pseudo-segunda ordem	$K_2 \times 10^2$	0,242 ± 0,098	0,119 ± 0,058	0,606 ± 0,691
	$SQR$	3,13	9,20	3,51
	$s$	0,79	1,36	0,84
	$EM$	0,18	0,25	0,23
Difusão intrapartícula Modelo de Weber	$K_W$	2,886 ± 0,792	2,616 ± 0,742	2,246 ± 0,595
	$SQR$	721,53	628,49	401,09
	$s$	12,01	11,21	8,96
	$EM$	2,76	2,81	2,75
Difusão intrapartícula Modelo de Crank	$K_C$	1,123 ± 0,377	0,710 ± 0,310	1,187 ± 0,531
	$SQR$	19,74	16,36	10,96
	$s$	1,99	1,81	1,48
	$EM$	1,22	1,17	1,24
Modelo convectivo Transferência de massa externa	$K_{TM} \times 10^2$	9,99	9,99	9,99
	$SQR$	155,51	122,79	45,58
	$s$	5,58	4,96	3,02
	$EM$	0,93	0,97	0,60

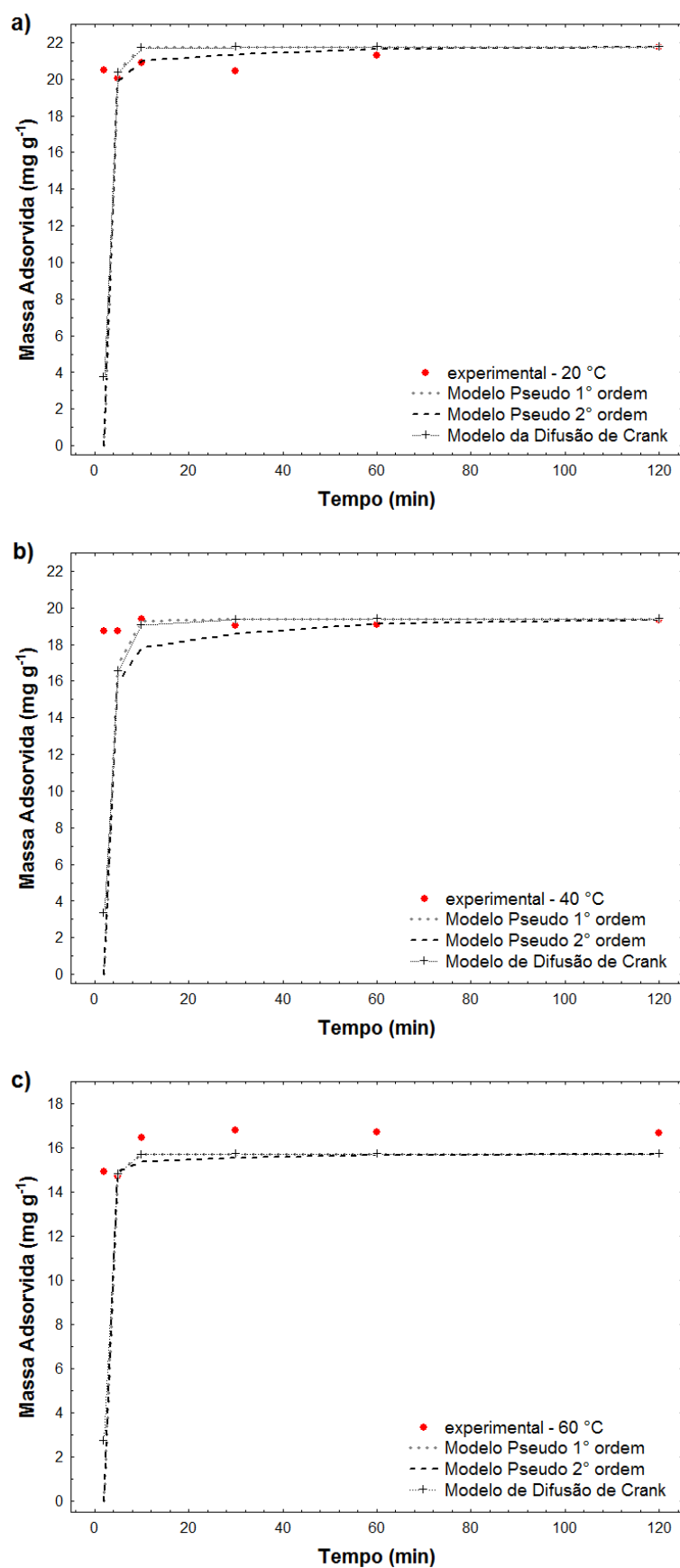


FIGURA 4.40 - MODELOS CINÉTICOS AVALIADOS PARA A BIODSORÇÃO DE COBRE.  
a) T = 20 °C; b) T = 40 °C; c) T = 60 °C

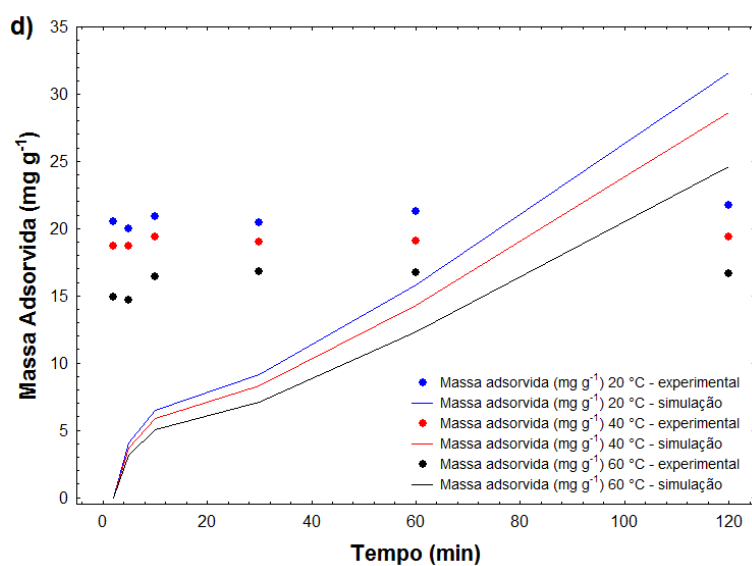


FIGURA 4.40 - MODELOS CINÉTICOS AVALIADOS PARA A BIOSSORÇÃO DE COBRE.  
d) MODELO DE DIFUSÃO DE WEBER PARA AS TEMPERATURAS ESTUDADAS.

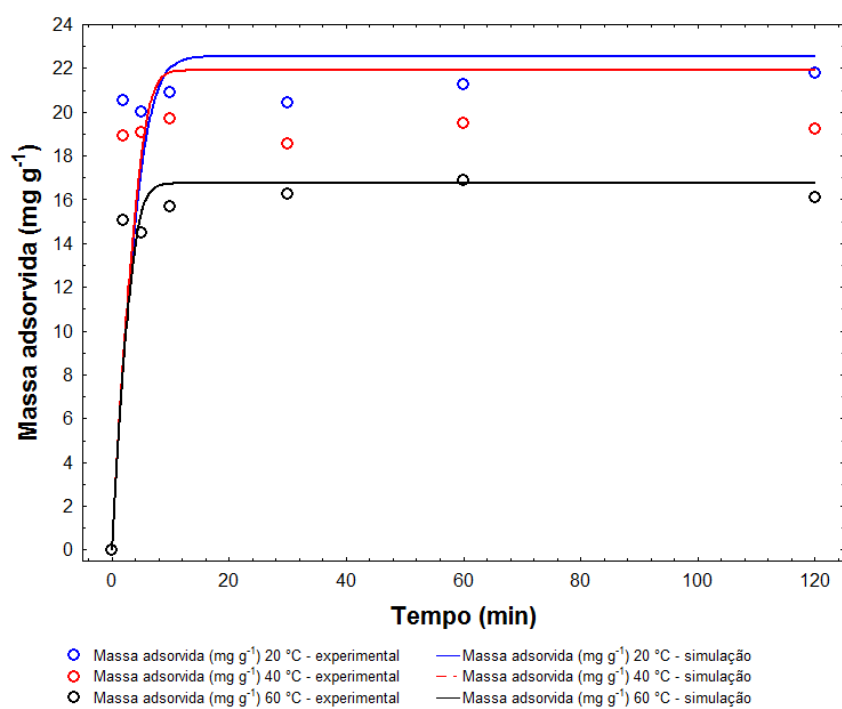


FIGURA 4.41 - BIOSSORÇÃO DE COBRE POR MEIO DO MODELO DIFUSIVO LIMITADO PELA TRANSFERÊNCIA DE MASSA EXTERNA.

A predição do comportamento da concentração de  $\text{Cu}^{2+}$  na solução e na interface pelo modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa (FIGURA 4.42) é similar ao observado para a bioadsorção do corante Bordeaux S.

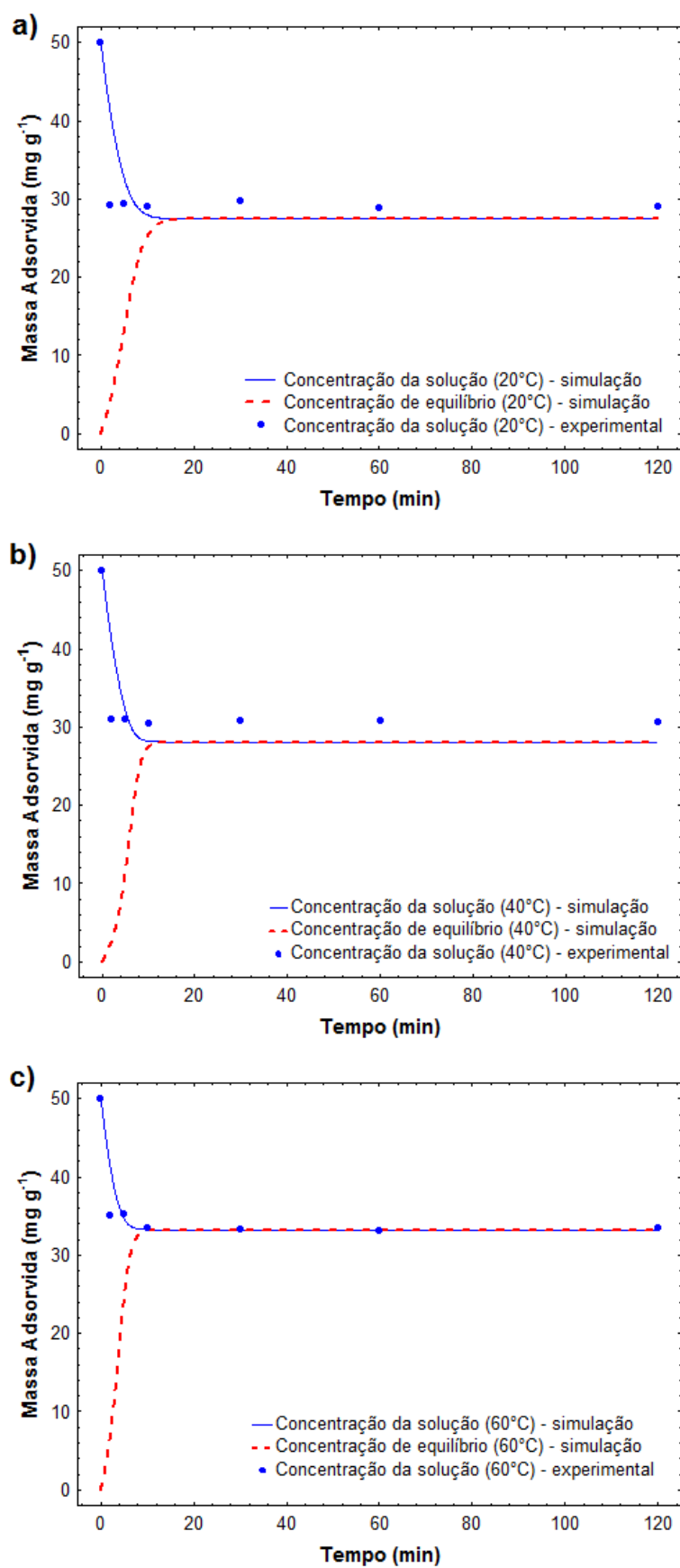


FIGURA 4.42 - VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE AO LONGO DO TEMPO  
 A) T = 20 °C; B) T = 30 °C; C) T = 40 °C

A concentração da solução decresce rapidamente e a concentração na interface cresce rapidamente até atingirem o equilíbrio, estabilizando o processo de bioissorção. Entretanto, o modelo não consegue prever a concentração adsorvida nos instantes iniciais, o que ocasiona os maiores desvio, com valores de  $SQR$  variando entre 45,58 e 155,81 e de Desvios Médios  $s$  entre 3,02 e 5,58  $\text{mg g}^{-1}$ .

O mecanismo de complexação entre o grupos funcionais com elétrons livres e o cátion  $\text{Cu}^{2+}$  somada ao efeito de atração de cargas entre a sericina e o cátion, no pH avaliado, favorece o desenvolvimento do processo de forma acelerada. A resistência que limita o processo é a disponibilidade de sítios ativos, ou seja, grupos de aminoácidos contendo elétrons disponíveis na camada de valência (hidroxilas e carboxilas). Como a sericina em pó obtida neste trabalho possui morfologia não porosa, os mecanismos de difusão intrapartícula são desprezíveis.

A resistência devida à difusão do cátion da solução para a interface do bioissorvente é minimizada justamente pelas condições favoráveis entre o balanço de cargas do cátion e a carga líquida da sericina no pH. Neste caso, o modelo difusivo limitado pela transferência de massa externa também não é preditivo especialmente para o período de transiência da bioissorção. Portanto, os modelos pautados em mecanismos reacionais (modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordens) apresentam maior capacidade preditiva para o processo de bioissorção.

## 5 CONCLUSÕES

Amostras de casulo de fio beneficiado dispõem de composição majoritária de proteína, contendo baixo teor de cinza e umidade. O fio, devido ao processamento, possui concentração menor de sericina e de cinzas.

A extração da sericina por meio aquoso possibilitou um rendimento de extração de  $23,99 \pm 0,96 \%$  a  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ , enquanto que a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  a extração foi insignificante. O perfil de massa molar obtida está na faixa de 20 a 400 kDa, com predominância na faixa de 100 a 200 kDa.

A extração com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  permitiu rendimento de extração de  $30,04 \pm 0,83 \%$ , a máxima remoção da sericina, entretanto ocasionou a hidrólise parcial da sericina, gerando peptídeos com massa molar inferior a 100 kDa.

O perfil reológico da sericina em meio aquoso sugere comportamento pseudoplástico sob escoamento. A solução ainda apresenta um aumento da viscosidade ao longo do tempo. Após 30 horas do período do processo de extração, constatou-se a rigidez na solução com a formação do gel. O efeito de *cross-over* do gel de sericina ocorre somente a partir de  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

O perfil de aminoácidos apresentou composição majoritária de aminoácidos polares, contendo serina (21,56 %), ácido aspártico (14,0 %), arginina (11,95 %), e glicina (23,2 %).

O processo de ultrafiltração permitiu o fracionamento das moléculas de alta massa molar (retentado) e de baixa massa molar (permeado). Entretanto, observou-se queda do fluxo de permeado da ordem de 90 %.

Os modos de operação avaliados apresentaram valores de fluxo de permeado entre  $8,02 \pm 0,06$  e  $9,56 \pm 0,67\text{ kg m}^{-2}\text{ h}^{-1}$ . O processo de batelada associada à retrolavagem permitiu a recuperação parcial de fluxo, da ordem de 20 % a 24 % por pulso de retrolavagem.

O mecanismo de bloqueio de poros predominante no processo de batelada foi o de bloqueio parcial de poros.

Obteve-se valores de coeficiente de rejeição acima de 85 % e de transmitância entre 10 e 40 % indicando a retenção de sericina no sistema e perda de massa na membrana.

As perdas de massa de sericina devido à retenção na membrana foram da ordem de 78,8 % e 81,4 % do montante presente na batelada; nas concentrações iniciais de 1,0 g L<sup>-1</sup> e 3,0 g L<sup>-1</sup>, respectivamente.

O processo de congelamento e descongelamento à temperatura ambiente das soluções aquosas contendo sericina permitiram a conversão de fração de estrutura randômica para configuração folha- $\beta$ , de forma a tornar a sericina menos solúvel, apta a uso direto como bioissorvente.

A sericina em pó obtida, a partir da desnaturação via congelamento e descongelamento, apresentou morfologia não porosa, com superfície irregular e área superficial média de 18,52 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.

O bioissorvente avaliado apresentou potencial bioissorutivo para fixação tanto de corantes sintéticos ácidos quanto para fixação de cátions metálicos.

O processo de bioissorção de corante Bordeaux S mediante sericina foi possível somente a pH inferior a 3,5. A máxima capacidade de bioissorção obtida para sericina foi de 214,06  $\pm$  2,46 mg g<sup>-1</sup>, para a temperatura de 20 °C.

O processo de bioissorção do corante Bordeaux S com a sericina é espontâneo, com  $\Delta G$  variando entre -14,19 a -13,46 kJ mol<sup>-1</sup>; exotérmico e de natureza física com  $\Delta H$  -0,27 kJ mol<sup>-1</sup>; e processo sem a mudança conformacional, com  $\Delta S$  estimado em 46, 12 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>.

O processo de bioissorção de íon Cu<sup>2+</sup> mediante sericina foi conduzido em pH 4,82. A máxima capacidade de bioissorção obtida para sericina foi de 21,77  $\pm$  0,22 mg g<sup>-1</sup> para a temperatura de 20 °C.

O processo de bioissorção de íon Cu<sup>2+</sup> com a sericina é espontâneo, com  $\Delta G$  variando entre -6,31 a -3,45 kJ mol<sup>-1</sup>; exotérmico e de natureza química com  $\Delta H$  -27,80 kJ mol<sup>-1</sup>; e o processo promove a ordenação da superfície devido a complexação do cobre nos aminoácidos polares, conforme valor de  $\Delta S$  estimado de -70,48 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>.

O modelo cinético e de equilíbrio com melhores capacidades preditivas tanto para a bioissorção do corante Bordeaux S e como para a bioissorção do íon Cu<sup>2+</sup> com a sericina foram os modelos de pseudo-segunda ordem e a isoterma de Langmuir, respectivamente.

Destaca-se que o processo de degomagem por meio de extração aquosa a 120°C apresenta uma alternativa tecnológica com potencial interesse



para a indústria da seda, uma vez que apresenta rendimentos significativos e ainda permite a obtenção de sericina com características químicas e estruturais com potencial uso em outros setores, possibilitando a obtenção de um subproduto com valor agregado.

O fracionamento mediante ultrafiltração, embora tenha se mostrado eficiente no tocante a segregação de moléculas e baixa massa molar (corrente de permeado) e de alta massa molar (corrente de retentado), apresentou grandes restrições quanto ao acúmulo de proteína na superfície da membrana e redução do fluxo de permeado.

Desta forma, outros estudos voltados ao fracionamento da sericina fazem-se necessários, como a avaliação de outros parâmetros (temperatura e pH da solução) ou a adoção de outras configurações e tipos de membranas para efetiva viabilidade técnica e operacional do processo de fracionamento.

A sericina apresenta potencial para uso como adsorvente, mediante interações específicas de seus grupos funcionais. Portanto, o uso direto da sericina ou em blendas com outros biomateriais, permite a obtenção de biossorventes com mecanismos de adsorção específicos e seletivos, de grande relevância tecnológica para o desenvolvimento de processos de separação.

## REFERÊNCIAS

ALTMAN G. H.; DIAZ F.; JAKUBA C.; CALABRO T.; HORAN R. L.; CHEN J.; LU H.; RICHMOND J.; KAPLAN D. L. Silk-based biomaterials. **Biomaterials**, v. 24, p. 401 - 416, 2003.

ANGHILERI A.; LANTTO R.; KRUUS K.; AROSIO C.; FREDDI G. Tyrosinase-catalyzed grafting of sericin peptides onto chitosan and production of protein-polysaccharide bioconjugates. **Journal of Biotechnology**, v. 127, p. 508 - 519, 2007.

ASLANI M. A. A.; ERAL M.; AKYIL S. Separation of thorium from aqueous solution using silk fibroin. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 238, p. 123 - 127, 1998.

AZEVEDO S. M.; CARDOSO M. G.; PEREIRA N. E.; RIBEIRO C. F. S.; SILVA V. F.; AGUIAR F. C. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência Agrotecnológica**, v. 27, p. 618 - 624, 2003.

BANAT F.; AL-ASHED S.; AL-ROUSAN D. Comparison between Different Keratin-composed Biosorbents for the Removal of Heavy Metal Ions from Aqueous Solutions. **Adsorption Science and Technology**, v. 20, p. 393 - 416, 2002.

BARKA N.; ABDENNOURI M.; BOUSSAOUD A.; MAKHFOUK M. Biosorption characteristics of Cadmium (II) onto *Scolymus hispanicus* L. as low-cost natural biosorbent. **Desalination**, v. 258, p. 66 – 71, 2010.

BARRETT, E. P., JOYNER, L. G. AND HALENDA, P. P. The Determination of pore volume and area distributions in porous substances.I. Computations from nitrogen isotherms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, p. 373-380, 1951

BARROS S.T.D., ANDRADE C.M.G., MENDES E.S., PERES L., Study of *fouling* mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration, **Journal of Membrane Science**, v. 215, p. 2133 - 224, 2003.

BENINCÁ C. Degradação do corante alimentício Ponceau 4R e tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos utilizando processos oxidativos avançados. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná. 2012.

BRADFORD M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 - 254, 1976.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, v. 60, p. 309-319, 1938.

CAPAR G.; AYGUN S. S.; GECIR M. R. Treatment of silk production wastewater by membrane process of sericin recovery. **Journal of Membrane Science**, v. 325, p. 920 - 931, 2008.

CAPAR G.; AYGUN S. S.; GECIT M. R. Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. **Journal of Membrane Science**, v. 342, p. 179 - 189, 2009.

CAPAR G. Separation of silkworm proteins in cocoon cooking wastewaters via nanofiltration: Effect of solution pH on enrichment of sericin. **Journal of Membrane Science**, v. 389, p. 509 - 521, 2012.

CARDOSO D. R.; NETO B. S. L.; FRANCO D. W. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. Parte II. **Química Nova**, v. 26, p. 165 - 169, 2003.

CARPINÉ D.; DAGOSTIN J. L. A.; SILVA V. R.; MAFRA L. I.; MAFRA M. R. Adsorption of volatile aroma compound 2-phenylethanol from synthetic solution onto granular activated carbon in batch and continuous modes. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 370 - 377, 2013.

CHEN X.; LAM K. F.; MAK S. F.; YEUNG K. L. Precious metal recovery by selective adsorption using biosorbents. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, p. 902 - 910, 2011.

CHEN X.; LAM K. F.; MAK S. F.; CHING W. K.; NG T. N. Assesment of sericin biosorbent for selective dye removal. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p. 426 - 432, 2012.

CHERYAN M. **Ultrafiltration Handbook**, Lancaster Pennsylvania: Technomic Publishing Company Inc. 1986.

CHO K. Y.; MOON J. Y.; LEE Y. W.; LEE K. G.; YEO J. H.; KWEON H. Y.; KIM, K. H.; CHO, C. S. Preparation of self-assembled silk sericin nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 32, p. 36 - 42, 2003.

DA ROS, S.; COLUSSO, G.; WESCHENFELDER, T. A.; TERRA, L. M.; CASTILHOS, F.; CORAZZA, M. L.; SCHWAAB, M. A comparison among stochastic optimization algorithms for parameter estimation of biochemical kinetic models. **Applied Soft Computing**, v. 13, p. 2205 - 2214, 2013.

DAMODARAN S., *Aminoácidos, peptídeos e proteína*. In: DAMODARAN S.; PARKIN K. L.; FENNEMA O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Editora Artmed, 4º edição, 2010.

DASH, R.; MANDAL, M.; GHOSH, S. K.; KUNDU, S.C. Silk sericin protein of tropical tasar silkworm inhibits UVB-induced apoptosis in human skin keratinocytes. **Molecular Cellular Biochemistry**, v. 311, p. 111 – 119, 2008.

DAVIS R. H., *Definitions*. In: HO W. S. W., SIRKAR K. K. **Membrane Handbook**, Nova Iorque: Editora Chapman & Hall, 1992. p. 457-460, Cap. 31.

DAVIS M. L.; CORNWELL D. A. **Introduction to environmental engineering**, 3ª edição, Editora Mcgraw-Hill, 1998.

DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L. G.; PINTO, L. A. A. Kinetics and Mechanism of Tartrazine Adsorption onto Chitin and Chitosan. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 6862 – 6868, 2012.

EL HADDAD, M.; MAMOUNI, R.; SLIMANI, R.; SAFFAJ, N.; RIDAOUI, M.; EL ANTRI, S.; LAZAR, S. Adsorptive removal of Reactive Yellow 84 dye from aqueous solutions onto animal bone meal. **Journal of Material and Environmental Science**, v. 3, p. 1019 – 1026, 2012.

ENAYATZAMIR E.; TABANDEH F.; YAKHCHALI B.; ALIKHANI H. A.; COUTO S. R. Assessment of the joint effect of laccase and cellobiose dehydrogenase on the decolouration of different synthetic dyes. **Journal of Hazardous Materials**. v. 169, 176 - 181, 2009.

ERGENE A.; ADA K.; TAN S.; KATIRCIOĞLU H. Removal of Remazol Brilliant Blue R dye from aqueous solutions by adsorption onto immobilized *Scenedesmus quadricauda*: Equilibrium and kinetic modeling studies. **Desalination**, v. 249, p. 1308 - 1314, 2009.

FABIANI, C.; PIZZICHINI, M.; SPADONI, M.; ZEDDITA, G. Treatment of waste water from silk degumming processes for protein recovery and water reuse. **Desalination**, v. 105, p. 1 - 7, 1996.

FEBRIANTO J., KOSASIH A. N., SUNARSO J., JU Y. H., INDRASWATI N., ISMADJ S. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 616 - 645, 2009.

FIELD R. W., WU D., HOWELL J. A., GUPTA B. B., Critical flux concept for microfiltration *fouling*. **Journal of Membrane Science**, v. 100, p. 259 - 272, 1995.

FREDDI, G.; MOSSOTTI, R.; INNOCENTI, R. Degumming of silk fabric with several proteases. **Journal of Biotechnology**, v. 106, p. 101 – 112, 2003.

GALAMBOS, I.; MOLINA, J. M.; JÁRAY, P.; VATAY, G.; MOLNAR, E. B. High organic content industrial wastewater treatment by membrane filtration. **Desalination**, v. 162, p. 117 - 120, 2004.

GENÇ, G.; NARIN, G.; BAYRAKTAR, O. Spray drying as a method of producing silk sericin powders. **Archives of Materials Science**, v. 29, p. 16 - 28, 2008.

GIMENES, M. L.; LIU, L.; FENG, X. Sericin/poly(vinyl alcohol) blend membranes for pervaporation separation of ethanol/water mixtures. **Journal of Membrane Science**, v. 295, p. 71 - 79, 2007.

GONG R., DING Y., LI M., YANG C., LIU H., SUN Y. Utilization of powdered peanut hull as biosorbent for removal of anionic dyes from aqueous solution. **Dyes and Pigments**, v. 64, p. 187 - 194, 2005

GRABUS, E.; SZANIAWSKA, D. Application of backflushing for fouling reduction during microfiltration of yeast suspensions. **Desalination**, v. 240, p. 46 - 53, 2009.

GULRAJANI M. L., BRAHMA K. P., KUMAR P. S., PURWAR R. Application of Silk Sericin to Polyester Fabric. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, p. 314 - 321, 2008.

GUPTA V. K.; RASTOGI, A.; SAINI A.; JAIN N. Biosorption of copper(II) from aqueous solutions by *Spirogyra* species. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, p. 59 - 63, 2006.

GURBUZ F. Removal of toxic hexavalent chromium ions from aqueous solution by a natural biomaterial: batch and column adsorption. **Adsorption Science and Technology**, v. 27, p. 745 - 759, 2009.

HABERT A. C.; BORGES C. P.; NOBREGA, R. **Processo de Separação por Membranas**, 1ª edição, Rio de Janeiro: Editora e-papers, 2006.

HAN X. Z., CAMPANELLA O. H.; HANPING GUAN, KEELING P. L., HAMAKER B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch pastes. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 323- 330, 2002.

HO Y. S.; MCKAY G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 451 – 465, 1999.

HO Y. S.; MCKAY G. Sorption of dyes and copper ions onto biosorbents. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1047 – 1061, 2003.

HOLANDA P. R. H.; MATA S. F.; LIMA A. G. B. Propriedades físicas e secagem de casulos do bicho-da-seda em leito fixo: uma investigação teórica e experimental. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, p. 104 – 114, 2004.

HUANG H. Y.; SHIH Y. C.; CHEN Y. C. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A.**, v. 959, p. 317 - 325, 2002

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª edição. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2004.

IZIDORO D. R.; SIERAKOWSKI M. R.; HAMINIUK C. W. I.; SOUZA C. F. S.; SCHEER A. P. Physical and chemical properties of ultrasonically, spray-dried green banana (*Musa cavendish*) starch. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 639 - 648, 2011.

JESUS A. M. D.; ROMÃO L. P. C.; ARAÚJO B. R.; COSTA A. S.; MARQUES J. J. Use of humin as an alternative material for adsorption/desorption of reactive dyes. **Desalination**, v. 274, p. 13 - 21, 2011.

KATO N.; SATO S.; YAMANAKA A.; YAMADA H.; FUWA N.; NOMURA M. Silk Protein, Sericin, Inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 62, p. 145 – 147, 1998.

KHAN A. A.; SINGH R. P. Adsorption thermodynamics of carbofuran on Sn (IV) arsenosilicate in H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> forms. **Colloids and Surfaces**, v. 24, n. 1, p. 33-42, 1987.

KARNITZ JR O.; GURGEL L. V. A.; MELO J. C. P.; BOTARO V. R.; MELO T. M. S.; GIL R. P. S.; GIL L. F. Adsorption of heavy metal ion from aqueous single metal solution by chemically modified sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1291 – 1297, 2007.

KHORMAEI M.; NASERNEJAD B.; EDRISI M.; ESLAMZADEH T. Copper biosorption from aqueous solutions by sour orange residue. **Journal of Hazardous Materials**, v. 149, p. 269 – 274, 2007.

KIM H. G.; PARK C.; YANG J.; LEE B.; KIM S. S.; KIM S. Optimization of backflushing conditions for ceramic ultrafiltration membrane of disperse dye solutions. **Desalination**, v. 202, p. 150 – 155, 2007.

KOLTUNIEWICZ A. B., NOWORYTA A., Method of yield evaluation of pressure-driven membrane process, **The Chemical Engineering Journal**, v. 58, p. 175 - 182, 1995.

KOSASIH A. N.; FEBRIANTO J.; SUNARSO J.; JU Y. H.; INDRASWATI N.; ISMADJI S. Sequestering of Cu(II) from aqueous solution using cassava peel (*Manihot esculenta*). **Journal of Hazardous Materials**, v. 180, p. 366 - 374, 2010.

KRATOCHVIL D.; VOLESKY B. Advances in the biosorption of heavy metals. **TIBTECH**, v. 16, p. 291 - 300, 1998.

KUNDU S. C.; DASH B. C.; DASH R.; KAPLAN D. L. Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: Potential for biomedical and biotechnological applications. **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 998 – 1012, 2008.

KWON D. Y.; VIGNESWARAN S.; FANE A. G.; AMIN R. B. Experimental determination of critical flux in cross-flow microfiltration. **Separation and Purification Technology**, v. 19, p. 169 - 180, 2000.

LAMBDIN C. E.; TAYLOR W. V. Determination of trace Copper in Petroleum Middle Distillates with cuprizone. **Analytical Chemistry**, v. 40, p. 2196 - 2197, 1968.

LAMOOLPHAK W.; EKNAMKUL W. D., SHOTIPRUK A. Hydrothermal production and characterization of protein and amino acids from silk waste. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 7678 - 7685, 2008.

LEE K. H.; KANG G. D.; SHIN B. S.; PARK Y. H. Sericin-fixed silk fiber as an immobilization support of enzyme. **Fibers and Polymers**, v. 6, p. 1 - 5, 2005.

LI M.; LU S.; WU Z.; TAN K.; MINOURA N.; KUGA S. Structure and properties of silk fibroin–poly(vinyl alcohol) gel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 30, p. 89 - 94, 2002.

MAHMOODI N. M.; ARAMI M.; MAZAHARI F.; RAHIMI S. Degradation of sericin (degumming) of Persian silk by ultrasound Degradation of sericin (degumming) of Persian silk by ultrasound. **Journal of Cleaner Production**, v. 18, p. 146 - 151, 2010.

MARCELINO A. G. **Desenvolvimento tecnológico da extração da sericina e preparação de nanopartículas para aplicação em cosméticos**. Dissertação de mestrado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2008.

MAUERSBERGER H. R. Matthews TEXTILE FIBERS Their Physical, Microscopic and Chemical Properties, 6ª edição, Londres, Chapman & Hall, 1954.

MATIS K. A.; ZOUBOLIS A. I.; LAZARIDIS N. K. Heavy metals removal by biosorption and flotation. **Water, Air, and Soil Pollution: Focus**, v. 3, p. 141 – 151, 2003.

MERIN U., DALFIN G., Cross-flow microfiltration in the dairy industry: state-of-art, **LAIT**, v. 70, p. 281 - 290, 1990.

MITTAL A.; KURUP L. K.; GUPTA V. K. Use of waste material - Bottom Ash and De-Oiled Soya, as potential adsorbents for the removal of amaranth from aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 117, p. 171 - 178, 2005.

MIYAGUSHI Y.; HU J. Physicochemical Properties of Silk Fibroin after Solubilization Using Calcium Chloride with or without Ethanol. **Food Science and Technology Research**, v. 11, p. 37 - 42, 2005.

MORI H.; TSUKADA M. New silk protein: modification of silk protein by gene engineering for production of biomaterials. **Reviews in Molecular Biotechnology**, v. 74, p. 95 - 103, 2000.

MOUROUZIDIS S. A. M.; KARABELAS A. J. Whey protein *fouling* of microfiltration ceramic membranes - Pressure effects. **Journal of Membrane Science**, v. 282, p. 124 - 132, 2006.



MULDER M., **Basic Principles of Membrane Technology**, 2° edição, Kluwer Academic Publishers, 1996.

NOR Y. M. Ecotoxicity of copper to aquatic biota: a review. **Environmental Research**, v. 43, p. 274 - 282, 1980.

PADAMWAR M. N.; PAWAR A. P. Silk sericin and its application: a review. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 63, p. 323 - 329, 2004.

PADAMWAR M. N.; PAWAR A. P.; DAITHANKAR A. V.; MAHADIK K. R. Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 4, p. 250 - 257, 2005.

PARIS J., GUICHARDON P., CHARBIT F., Transport phenomena in ultrafiltration: a new two-dimensional model compared with classical models, **Journal of Membrane Science**, v. 207, p. 43 - 58, 2002.

PARK K. J.; JIN H. H.; HYUN C. K. Antigenotoxicity of peptides produced from silk fibroin. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 411 - 418, 2002.

PAVASANT P.; APIRATIKUL R.; SUNGKHUM V.; SUTHIPARINYANONT P.; WATTANACHIRA S.; MARHABA T. F. Biosorption of Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, and Zn<sup>2+</sup> using dried marine green macroalga *Caulerpa lentillifera*. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2321 – 2329, 2006.

PERSSON K. M., GEKAS V., TRÄGARDH G., Study of membrane compaction and its influence on ultrafiltration water permeability, **Journal of Membrane Science**, v. 100, p. 55 - 62, 1995.

PINTO J. C.; LAGE P. L. **Métodos Numéricos em Problemas de Engenharia Química**, 1° edição, Rio de Janeiro: Editora e-papers, 2001.

PONNUSAMI V., RAJAN K. S., SRIVASTAVA S. N. Application of film-pore diffusion model for methylene blue adsorption onto plant leaf powders. **Chemical Engineering Journal**, v. 163, p. 236 - 242, 2010.

PRADO M. A.; GODOY H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, p. 268 - 273, 2007.

PURANIK P. R.; MODAK J. M.; PAKNIKAR K. M. A comparative study of the mass transfer kinetics of metal biosorption by microbial biomass. **Hydrometallurgy**, v. 52, p. 189 - 197, 1999

QIU H.; LU L. V.; PAN B. C.; ZHANG Q. J.; ZHANG W. M.; ZHANG Q. X. Critical review in adsorption kinetic models. **Journal of Zhejiang University Science A**, v. 10, p. 716 - 724, 2009.

RAO M. A. Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications. 2ª edição, Springer, 2007.

RUTHVEN D. M. **Principles of adsorption and adsorption process**, 1ª edição, John Wiley and Sons INC., 1984.

SALIS A.; BOSTRÖM M.; MEDDA L.; CUGIA F.; BARSE B.; PARSONS D. F.; NINHAM B. W.; MONDUZZI M. Measurements and Theoretical Interpretation of Points of Zero Charge/Potential of BSA Protein. **Langmuir**, v. 27, p. 11597 – 11604, 2011.

SASAKI M.; YAMADA H.; KATO N. Consumption of silk protein, sericin elevates intestinal absorption of Zinc, Iron, Magnesium and Calcium in rats. **Nutrition Research**, v. 20, p. 1505 - 1511, 2000.

SARGENTELLI R. F.; CASTRO H. A.; MASSABNI A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, v. 19, p. 290 - 293, 1996.

SEAB – Secretaria de estado da agricultura e do abastecimento. Visitado em 28/06/2011. Disponível em:  
[http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/seda\\_2010\\_11.pdf](http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/seda_2010_11.pdf)

SGARBIEIRI V. C. Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades, Degradações e Modificações, 6ª edição, São Paulo, Livraria Varela, 1996.

SILVA V. R.; SCHEER A. P. Estudo do processamento por microfiltração de soluções aquosas de pectina em membranas cerâmicas. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, p. 215 - 220, 2011.

SILVA V. R.; VASQUEZ E. C.; ANDRADE E. F.; MANTOVANI D.; MAFRA L. I. Avaliação do processo de adsorção e processo oxidativo Fenton para a remoção de corante de efluente da indústria têxtil. **Revista Tecnológica**, v.19, p. 55 - 62, 2011.

SILVA V. R.; HAMERSKI F.; SCHEER A. P. Pretreatment of aqueous pectin solution by cross-flow microfiltration: analysis of operational parameters, degree of concentration and pectin losses. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 1246 - 1252, 2012.

ŠLJIVIC M.; SMIČIKLAS I.; PLEČAŠ I.; MITRIC M. The influence of equilibration conditions and hydroxyapatite physico-chemical properties onto retention of Cu<sup>2+</sup> ions. **Chemical Engineering Journal**, v. 148, p. 80 - 88, 2008.

SONJUI T.; NOOMHORM C.; PROMBOON A. Sericin Recovery from Silk Cocoon Degumming Wastewater by a Membrane Process. **Kasetsart Journal: Natural Sciences**, v. 43, p. 538 - 549, 2009.

SRIHANAM P.; SINCHEUR W.; SRISUWAN Y. Study on Silk sericin and quitosan blend film: Morphology and Secondary Structure characterization. **Pakistan Journal of Biological Science**, v. 12, p. 1487 - 1490, 2009.

SULAK M. T.; YATMAZ M. C. Removal of textile dyes from aqueous solutions with eco-friendly biosorbent. **Desalination and Water Treatment**, v. 37, 169 – 177, 2012.

TAKASU Y.; YAMADA H.; TSUBOUCHI K. Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 66, p. 2715 - 2718, 2002.

TAKESHI T.; MAEKAWA Z.; SUGIMURA Y. Use of sericin as an ingredient of salad dressing. **Food Science Technology Research**, v. 17, p. 493 - 497, 2011.

TAO W.; LI M.; XIE R. Preparation and Structure of Porous Silk Sericin Materials. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 290, p. 188 - 194, 2005.

TERAMOTO H.; MIYASAWA M. Molecular Orientation Behavior of Silk Sericin Film as Revealed by ATR Infrared Spectroscopy. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2049 – 2056, 2005.

TOMADON JR J. **Obtenção da proteína sericina, com alta massa molar, a partir de casulos *Bombyx mori***. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2011.

TURBIANI F. R. B. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de sericina e PVA reticulados com dimetiluréia**. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2011.

VAITHANOMSAT P.; KITPREECHAVANICH V. Sericin separation from silk degumming wastewater. **Separation and Purification Technology**, v. 59, p. 129 - 133, 2008.

VEGLIO F.; BEOLCHINI F. Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, v. 144, 301 - 316, 1997.

VELKOVA Z.; STOYCHEVA M.; GOCHEV V. Biosorption of Cu (II) onto chemically modified waste mycelium of *Aspergillus awamori*: Equilibrium, kinetics and modeling studies. **Journal of Bioscience and Biotechnology**, v. 1, p. 163 – 169, 2012.

WESKA R. F.; VIEIRA JR W. C.; NOGUEIRA G. M.; BEPPU M. M. Effect of Freezing Methods on the Properties of Lyophilized Porous Silk Fibroin Membranes. **Materials Research**, v. 12, p. 233 - 237, 2009.

WU J. H.; WANG Z.; XU S. Y. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. **Food Chemistry**, v. 103 p. 1255 - 1262, 2007.

WU J. H.; WANG Z.; XU S. Y. Enzymatic production of bioactive peptides from sericin recovered from silk industry wastewater. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 480 - 487, 2008.

ZAIA D. A. M.; ZAIA C. T. B. V.; LICHTIG J. Determinação de Proteínas Totais via Espectrofotométrica: Vantagens e Desvantagens dos Métodos Existentes. **Química Nova**, v. 26, p. 787 - 796, 1998.

ZANETTI R.; REIS M. A. **Sericicultura**, 1 ° Edição, Lavras, Editora UFLA, 2003.

ZARGAR B.; PARHAM H.; HATAMIE A. Fast removal and recovery of amaranth by modified iron oxide magnetic nanoparticles. **Chemosphere**, v. 76, p. 554 - 557, 2009.

ZHANG Y. Q. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 91 — 100, 2002

ZHANG Y. Q.; TAO M. L.; SHEN W. D.; MAO J. P.; CHEN Y. H. Synthesis of silk sericin peptides–L-asparaginase conjugates and their characterization. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, p. 136 - 145, 2006.

ZHU L. J.; ARAI M.; HIRABAYASHI K. Gelation of silk sericin and physical properties of the gel. **Journal of Sericultural Science of Japan**, v. 64, p. 415 – 419, 1995.

ZUIM D. R.; CARPINÉ D.; DISTLER G. A. R.; SCHEER A. P.; MAFRA L. I.; MAFRA M. R. Adsorption of two coffee aromas from synthetic aqueous solution onto granular activated carbon derived from coconut husks. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 284 – 292, 2011.